

Especial Trabajos Científicos



28
congreso
nacional
2015

· CURSO PREVIO (TSLDC-TSAPyC) ·
21, 22 y 23 de mayo
«*Nanomedicina y El laboratorio*»

Reconocido de Interés Sanitario por la
Dirección General de Planificación i Recerca en Salut,
Departamento de Salut de la Generalitat de Catalunya



Nanobiomedicina

Palau Firal i de Congressos de Tarragona 22 y 23 de mayo



— **Comité Organizador** —

Presidente Juan Carlos Rodríguez Pérez
Secretaría Técnica Enriqueta Pumarejo Gómez
Secretaría de Finanzas Flora Sierra Puparelli
Directora del Curso Previo Patricia Fernández González

— **Junta Directiva Aetel** —

Presidente Juan Carlos Rodríguez Pérez
Vicepresidenta Patricia Fernández González
Tesorera Flora Sierra Puparelli
Secretaria Enriqueta Pumarejo Gómez
Vicesecretario Ignacio Pulido Letrán
Vocales Carmen Díaz González
Ángel Estébanez Gallo
José Herminio García Vela
José María González Herbón
María Jesús Lagarto Benito
Marcos Vázquez Castro

— **Comité Científico** —

Presidenta M.^a Jesús Lagarto Benito
Coordinadores Científicos Carmen Casado Hernández
M.^a José de Cabo Morales
Teresa Prieto Martín
Rosaura Reguera Andrés
Javier Sánchez Hernández



SUMARIO

- Anatomía Patológica	05
- Bioquímica	19
- Genética	66
- Hematología	72
- Inmunología	93
- Microbiología	98
- Miscelánea	126
- Índice de autores	134

DIRECTOR Juan Carlos Rodríguez Pérez

CONSEJO REDACCIÓN Patricia Fernández González, M.^a Jesús Lagarto Benito.

REDACCIÓN AETEL C/ Cabeza de Vaca, 14 - Teléfono 923 252 395 - Fax 923 252 347

37004 Salamanca - salamanca@aetel.es

EDITA AETEL

DISEÑO e IMPRESIÓN Alfredo Gráficos - alfredograficos@alfredograficos.com

Dep. Legal M-10477-89 ISSN 1699-1036 Tirada 7.000 ejemplares

DISTRIBUCIÓN AETEL se distribuye a todos los socios, suscriptores, autoridades sanitarias y educativas

ANATOMÍA PATOLÓGICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 028

RENTABILIDAD EN EL ESTUDIO DE LA CITOLOGÍA URINARIA UTILIZANDO THINPREP

Autor/a/s: POSADA POSADA MIGUEL ANGEL, LAGARTO BENITO MARIA JESÚS, BARRIO CAÑAS ERIKA, JIMÉNEZ GARCÍA AQUILINO, GARCÍA LAGARTO ELENA, PERAL MARTINEZ JOSE IGNACIO

Centro de trabajo: HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO VALLADOLID

Localidad: VALLADOLID

Correo electrónico del primer firmante: poxthebox@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La citología urinaria constituye una herramienta importante en el diagnóstico y control de los tumores vesicales, debido a su bajo coste y mínima molestia para el paciente.

OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo es la difusión de la técnica empleada en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han recibido 3984 muestras de orina que corresponden a 1328 pacientes durante el año 2014.

Según nuestro protocolo, cada paciente entrega 3 muestras de orina en 3 días consecutivos, las cuales tras ser centrifugadas por separado a una velocidad de 1500g (3000 r.p.m.), se unifican al tercer día en una sola muestra. Posteriormente se procesa con el método de citología líquida THINPREP y se tiñe con Papanicolaou. La cantidad de muestra restante puede conservarse durante 3 meses sin perder calidad.

RESULTADOS:

Utilizando éste método se aprecia abundante celularidad y gran conservación celular, mejorando los diagnósticos con disminución de falsos positivos en un 17,4% y de citologías dudosas en un 13,7%.

Para la interpretación de las muestras en su visualización al microscopio, es necesario un buen entrenamiento previo.

CONCLUSIONES:

Con este método, se mejora la visualización celular, debido a un aumento considerable de celularidad, perfectamente conservada, ya que se han unificado tres muestras en una y además se ha eliminado el fondo hemorrágico y disminuido el inflamatorio.

Este método permite además la realización de técnicas complementarias a posteriori, conservando siempre la calidad de la muestra.

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla. IBIS

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: ricardomelendezcadenas@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cáncer de pulmón es el segundo cáncer más frecuente y el responsable de mayor número de muertes. El cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) representa el grupo histológico mayoritario de los tumores de pulmón (80%) con una tasa de supervivencia a los cinco años de aproximadamente el 15%. Las formas más comunes de NSCLC son el adenocarcinoma (ADC, 30-50%) y el carcinoma epidermoide (SCC, 30%). Su mal pronóstico está condicionado por lo tardío del diagnóstico y la escasez de terapias efectivas. Debido a la ausencia de terapias efectivas, es necesario estudiar nuevas estrategias terapéuticas y es importante hacerlo en modelos preclínicos predictivos adecuados, como los modelos PDX (patient derived xenografts).

OBJETIVOS:

Con este proyecto pretendemos generar una plataforma de modelos PDX basada en implantes subcutáneos de tumores de pacientes con NSCLC que posteriormente utilizaremos como herramienta para evaluar nuevas estrategias terapéuticas eficaces para los pacientes con cáncer de pulmón.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Para establecer el injerto los tumores se implantarán subcutáneamente en ratones nu+/nu+ hembras de 5-10 semanas mediante una pequeña incisión en el flanco (Pase 0). Para expandir los modelos establecidos, los tumores de pase 0 de un tamaño de 1500 mm³, serán recolectados y reimplantados en nuevos ratones (pase 1). Este proceso se repetirá con los ratones de pase 1 para reimplantar ratones de pase 2 y así asegurar un crecimiento exponencial y un número de muestras adecuado para generar el repositorio (Figura 1). En paralelo, de cada tumor se generará un repositorio de DNA, RNA, proteínas, muestras congeladas y parafinadas que servirá para caracterizar molecularmente todos los modelos y para realizar estudios posteriores. Para ello, los ratones con tumores de un tamaño de 1500 mm³ serán sacrificados y los tumores serán procesados para guardar los siguientes tipos de muestras:

- Muestras fijadas en formol y parafinadas conservadas a temperatura ambiente para realizar estudios de inmunohistoquímica
- Muestras para extraer ADN conservadas a -80°C
- Muestras para extraer ARN conservadas a -80°C
- Muestras para extraer proteínas conservadas a -80°C
- Muestras en fragmentos de 3x3x3 mm³, congelados en grupos de 4-8 fragmentos con FBS+10%DMSO en criotubos conservados en tanques de N₂ para la implantar en ratones y realizar la fase experimental de evaluación de nuevas estrategias terapéuticas.

RESULTADOS:

A continuación se detallan los porcentajes de modelos establecidos según la histología del tumor

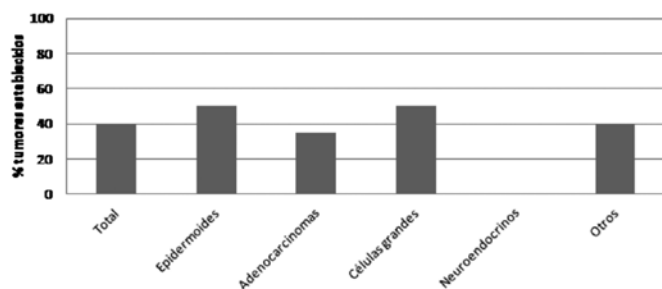
Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 044

GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA PLATAFORMA IN VIVO DE TUMORES DE PULMÓN HUMANO XENOINJERTADOS EN RATONES

Autor/a/s: Meléndez Cadenas, Ricardo José; Salinas Villegas, Ana; Suárez Beltrán, Rocío

% Tumores establecidos por Histología



		n	% establecidos
Total	implantados	108	
	pasados	43	39,8
Epidermoides	implantados	52	
	pasados	26	50,0
Adenocarcinomas	implantados	37	
	pasados	13	35,1
Células grandes	implantados	6	
	pasados	3	50,0
Neuroendocrinos	implantados	3	
	pasados	0	0,0
Otros	implantados	5	
	pasados	2	40,0

CONCLUSIONES:

Actualmente disponemos de 43 modelos PDX establecidos de diferentes histologías, estadios y características moleculares. De casi todos ellos ya disponemos de diferentes números de viales con trozos congelados que nos permitirán realizar la fase de experimentación con la que podremos evaluar la eficacia terapéutica de diferentes combinaciones de fármacos y predecir que estrategias terapéuticas podrían ser eficaces en ensayos clínicos en humanos. Asimismo, nos facilitará analizar el perfil transcripcional de los tumores sensibles y resistentes a las diferentes combinaciones lo que nos permitirá identificar factores predictivos de respuesta. Las combinaciones que muestren más eficacia terapéutica y los factores predictivos encontrados serán propuestos para validación en ensayos clínicos en humanos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 052

CONTRIBUCIÓN DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO AL DIAGNÓSTICO DE LA MASTOCITOSIS

Autor/a/s: Martín Román Silvia, Jimenez Martí Laura, Aymerich Gregorio Marta, Villamor Casas Neus

Centro de trabajo: Fundació Clinic

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: simartin@clinic.ub.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La mastocitosis es una enfermedad heterogénea caracterizada por la acumulación de mastocitos clonales en diferentes tejidos y se manifiesta como mastocitosis cutánea aislada o como una forma sistémica. El diagnóstico y la clasificación se basa en la integración de datos clínicos, bioquímicos, morfológicos, histopatológicos, inmunofenotípicos y moleculares. La mutación de KIT D816V confirma el diagnóstico de mastocitosis. La mastocitosis sistémica puede ser indolente o agresiva. En el primer caso la mutación de KIT se encuentra solo en los mastocitos, mientras que en la forma agresiva está presente en todas las células hematológicas.

La citometría de flujo es una técnica esencial en el diagnóstico puesto que permite: 1) analizar las características fenotípicas de los mastocitos (CD117+++) para clasificarlos como normales (CD2-, CD25-) o patológicos (CD2+, CD25+) y 2) separar subpoblaciones para estudio de la mutación del gen KIT D816V en varias líneas celulares hematopoyéticas.

OBJETIVO:

Analizar la contribución de la citometría de flujo en la clasificación del tipo de mastocitosis en dos pacientes con histología cutánea de mastocitosis.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se obtuvo medula ósea mediante aspiración para estudio morfológico, fenotípico y molecular en una mujer de 29 años (paciente A) y en un hombre de 49 años (paciente B). Se registraron los datos clínicos y analíticos que incluían triptasa sérica. Se cuantificó el número de mastocitos y se analizó su fenotipo por inmunofluorescencia directa en un citómetro FACSCanto II. Se separaron los mastocitos, granulocitos, linfocitos T y células inmaduras en un FACS Aria II. Se realizó un PCR cuantitativa alelo específica en las poblaciones obtenidas y en una muestra de sangre medular total.

RESULTADOS:

La infiltración por mastocitos fue <0.01% con un fenotipo normal (CD25-, CD2-) en A y del 2% en B con un fenotipo patológico (CD25+, CD2+). El análisis molecular de la mutación de KIT D816V en la muestra de sangre total fue normal en A y muy débilmente positivo en B y en la subpoblación de mastocitos resultó normal en A y mutado en B. KIT D816V resultó normal en el resto de subpoblaciones celulares analizadas en ambos pacientes.

Tras la integración de los resultados clínicos, bioquímicos, morfológicos, inmunofenotípicos y moleculares de los pacientes A y B, los diagnósticos finales fueron de mastocitosis cutánea y mastocitosis sistémica, respectivamente.

CONCLUSIONES:

El análisis inmunofenotípico multiparamétrico mediante citometría de flujo contribuye al diagnóstico de clonalidad de la mastocitosis sistémica por la detección de un fenotipo anómalo y facilita la separación de subpoblaciones celulares que mejora significativamente la sensibilidad de los resultados del estudio del gen KIT D816V y permite establecer cuantas líneas celulares hematopoyéticas están afectas por la mutación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 054

ALK EN POBLACIÓN GALLEGA CON CARCINOMA PULMONAR NO MICROCÍTICO

Autor/a/s: Rico Rodríguez, Trinidad Yolanda; Vázquez-Boquete, Ángel; Couso-Folgueiras, María Elena; Piso Neiras, Magali; Sánchez Ares, María; Pérez-Becerra Ferreira, Raquel; Antúnez López, José Ramón; Camese-Ile-Teijeiro, José Manuel; Abdulkader Nallib, Ihab

Centro de trabajo: C.H.U. de Santiago

Localidad: Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: yolarico72@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las alteraciones genéticas en el gen de la Kinasa del linfoma anaplásico (ALK) están implicadas en la patogénesis del carcinoma pul-

monar no microcítico (CPNM). Este reordenamiento cromosómico se sitúa en un rango del 2-7% de los casos y produce activación constitutiva del receptor tirosín-kinasa de ALK con efecto oncogénico. Pacientes con reordenamiento de ALK responden a tratamientos con inhibidores tirosín-kinasa (Crizotinib, Ceritinib), que generan una reducción muy significativa del tamaño tumoral, y un aumento de la esperanza y calidad de vida. La incidencia de ALK-positivo es mayor en mujeres jóvenes, no fumadores, y se asocia a un patrón histológico de adenocarcinoma.

OBJETIVOS:

Estimar la prevalencia del reordenamiento del gen ALK en la población gallega así como conocer las características clínico-patológicas con las que puede correlacionarse su presencia.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha realizado el estudio del reordenamiento del gen ALK en una cohorte de 1481 pacientes diagnosticados de CPNM procedentes de hospitales gallegos. Las muestras provienen de biopsias endoscópicas, bloques citológicos, extensiones citológicas sin teñir o teñidas con Papanicolau, portaobjetos con tinción de hematoxilina o inmunohistoquímica. El reordenamiento del gen ALK ha sido determinado por hibridación in situ por fluorescencia (FISH) usando el kit Vysis ALK Break Apart FISH Probe (Abbott Molecular, Abbott Park, IL, USA). Las señales de la sonda se evaluaron mediante un microscopio de fluorescencia usando un objetivo de inmersión por dos observadores independientes.

RESULTADOS:

De los casos estudiados un 93% fueron valorables y un 4,5% resultaron positivos para ALK. De los pacientes ALK-positivo el 59% eran mujeres, el 36% no fumadores, y la edad media de 57,9 (rango: 25 - 89) años. Por tipo histológico encontramos un 85% de adenocarcinomas, un 11,6% de carcinomas de célula no pequeña, un 1,7% de carcinomas escamosos y un 1,7% de carcinomas neuroendocrinos. El tipo de reordenamiento más común fue la traslocación (69%).

CONCLUSIONES:

La determinación del reordenamiento de ALK es un método útil en la práctica clínica y se detectó en el 4,5% de los pacientes de nuestra área. Los datos clinicopatológicos obtenidos en este estudio son concordantes con los descritos en la literatura.

mitivos más frecuentemente encontrados, seguidos del tracto gastrointestinal, en particular carcinomas colo-rectales.

Se describe el caso de una mujer de 68 años que presenta en el último año un cuadro de anorexia y pérdida de peso (10 kgrs). En la exploración física se observa una masa cervical a expensas del lóbulo tiroideo izquierdo que se acompaña de adenopatías en región cervical izquierda.

Se solicita PAAF de tiroides.

OBJETIVOS:

Definir las características morfológicas de las metástasis en tiroides por adenocarcinoma de origen colo-rectal.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó punción aspiración con aguja fina (25G) de tumoración en región tiroidea izquierda.

Las extensiones fueron teñidas con Hemacolor (Merck) y Papanicola (Merck).

El lavado de la aguja fue procesado utilizando el ThinPrep Pap Test, (TPPT, Hologic, Malborough, Massachussets) y teñido posteriormente con Papanicolau (Merck).

Además del estudio histológico convencional (H&E) de la pieza quirúrgica, se procedió al estudio inmunohistoquímico sobre secciones en parafina usando el sistema EnVision (Dako, Glostrup, Dinamarca), que utiliza un polímero de dextrano ligado a peroxidasa para evitar falsas positividad por la biotina endógena o la actividad biotina-like, utilizando como anticuerpos primarios citoqueratina 7, citoqueratina 20, CDX2, TTF1, tiroglobulina y calcitonina.

RESULTADOS:

Las muestras citológicas eran de gran riqueza celular con fondo hemático y sin evidenciarse coloide de fondo. Los elementos celulares se disponían formando grupos desordenados, tridimensionales, así como de forma disociada. De forma ocasional se observaron formaciones pseudoacinares. Las células presentaban citoplasma escaso o incompleto, de límites imprecisos, con presencia ocasional de formas prismáticas. Los núcleos eran ovales o ligeramente alargados, irregulares, con moderado pleomorfismo y cromatina en grumos gruesos de distribución irregular.

Con el diagnóstico citológico de carcinoma probablemente tiroideo con metástasis ganglionares se realizó tiroidectomía total con linfadenectomía. El diagnóstico histopatológico fue de infiltración masiva por adenocarcinoma moderadamente diferenciado que alcanzaba tejidos peritiroideos y bordes de resección quirúrgica. El estudio inmunohistoquímico evidenció inmunorreactividad en los elementos neoplásicos para ck20 y cdx2. Sin embargo, la ck7, el TTF1, la tiroglobulina y la calcitonina dieron resultado negativo.

CONCLUSIÓN:

El diagnóstico por PAAF de metástasis en la glándula tiroides, en general, ofrece dificultades cuando las células malignas son indiferenciadas, se desconoce la existencia de un tumor primario, o éste es muy remoto, o cuando la apariencia citomorfológica es similar a cánceres tiroideos primarios.

En estos casos el empleo de técnicas inmunohistoquímicas y el reconocimiento de características citológicas típicas pueden permitir realizar el diagnóstico, en el caso a estudio nos permitió clasificar a la neoplasia como una metástasis tiroidea por un adenocarcinoma primitivo de intestino grueso.

En casos confirmados como metástasis en tiroides de cánceres colorectales, pulmonares o de mama la PAAF permite obtener material óptimo para estudios moleculares e identificación de dianas terapéuticas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 058

METÁSTASIS TIROIDEA POR ADENOCARCINOMA DE COLON. CUADRO CITOLÓGICO POR PAAF

Autor/a/s: BUELA CRUCES JOSEFA, DE BLAS FILGUEIRA MARÍA DE LOS ÁNGELES, ANTUNEZ LOPEZ JOSÉ RAMÓN

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE SANTIAGO

Localidad: SANTIAGO DE COMPOSTELA

Correo electrónico del primer firmante: josefa.buela.cruces@sergas.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las metástasis tiroideas representan las lesiones tiroideas malignas menos frecuentes, aunque la detección post-mortem en estudios de autopsia de metástasis clínicamente ocultas, no resulta tan extraña, probablemente debido a la búsqueda metódica de las mismas. El riñón, pulmón, la mama y el melanoma representan los tumores pri-

EVALUACIÓN DE LA INTERNALIZACIÓN IN VITRO Y BIODISTRIBUCIÓN IN VIVO DE UNA NANOPARTÍCULA PROTEICA PARA TERAPIA DIRIGIDA A CÉLULAS CXCR4 + EN CÁNCER COLORRECTAL METASTÁSICO.

Autor/a/s: Carmen Cabrera, Ugutz Unzueta, Patricia Alamo, Antonio Villaverde, Esther Vázquez, Isolda Casanova, Miguel Angel Pavón, Irene Arroyo, Ramón Mangues y M^a Virtudes Céspedes

Centro de trabajo: CIBER-BBN, IIB Sant Pau y UAB (BCN)

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: CCabreraR@santpau.cat

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La administración dirigida de moléculas terapéuticas se ha convertido en una herramienta prometedora en nanomedicina ya que permite un aumento local de la concentración de fármaco, así como la reducción de la toxicidad sistémica. Actualmente, de los diferentes vectores a escala nanométrica, las nanopartículas de proteínas aparecen como las más prometedoras debido a que presentan una alta biocompatibilidad, biodegradabilidad y plasticidad en el diseño. Por otra parte, la expresión del receptor de quimioquinas CXCR4 se ha asociado con diseminación metastásica y se ha descrito como un elemento clave en la formación de metástasis en diferentes tipos de tumores, incluyendo el cáncer colorrectal (CCR), en el que las metástasis tempranas aparecen en el 50% de los pacientes.

OBJETIVOS:

Nuestro primer objetivo ha sido estudiar la internalización in vitro de cuatro nanopartículas autoensambladas portadoras de diferentes ligandos del receptor CXCR4, unidos a GFP (proteína verde fluorescente) (T22-GFP) y evaluar su capacidad de internalización a través de CXCR4. Nuestro segundo objetivo ha sido estudiar la biodistribución de (T22-GFP) in vivo.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Para el primer objetivo hemos utilizado distintas líneas celulares de CCR en cultivo y con expresión de CXCR4. Para el estudio de la biodistribución in vivo utilizaremos un modelo ortotópico de CCR colorrectal generado en ratones inmunodeprimidos. Administraremos un bolus i.v de distintas dosis (20, 100, 500 µg) de nanopartícula T22-GFP y evaluaremos su acumulación en tumor primario y metástasis.

RESULTADOS:

Todos los ligandos del receptor ensayados presentaron capacidad de internalización, pero sólo la nanopartícula que contenía el péptido 18 mer, T22, derivado de la proteína polyphemus II, penetró con más eficiencia en las células diana a través de una ruta de internalización receptor-endosoma. Esta internalización fue dependiente de CXCR4, acumulándose principalmente en la región perinuclear de las células cultivadas. La administración iv de T22-GFP (20 µg, 100 µg o 500 µg) mostró una acumulación de nanopartícula en tumor primario y en todos los focos macro y micrometastásicos generados. Además, la captación se mantuvo durante más de 24 horas. El análisis inmunohistoquímico con un anticuerpo frente a la proteína CXCR4, reveló la nanopartícula internalizada en tumor primario y en las metástasis desarrolladas, y la especificidad a través del receptor CXCR4 in vivo. En los ensayos in vivo, no se detectó signos de toxicidad aparente en los animales.

CONCLUSIONES:

La nanopartícula T22-GFP podría ser una herramienta muy prometedora para la entrega de fármacos selectivamente a células CXCR4+ en aquellas patologías vinculadas a CXCR4 como es el caso del CCR y otros tipos de cáncer o infecciones por virus de la inmunodeficiencia humana entre otras.

MUTACIONES EN EL GEN MPL EN SINDROMES MIELOPROLIFERATIVOS JAK2 Y CALR NEGATIVOS.

Autor/a/s: Nayach Montelracema ; Jimenez Martí Laura ; Colomer Pujol Dolors

Centro de trabajo: Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: nayach@clinic.ub.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En el diagnóstico de las enfermedades mieloproliferativas crónicas Filadelfia negativas clásicas (policitemia vera (PV); trombocitemia esencial (TE) y mielofibrosis primaria (MFP) y en su conocimiento ha jugado un papel crucial el descubrimiento de la mutación clonal en el exón 14 del gen JAK2 así como el de la Calreticulina (CALR exón9) y MPL (exón 10) en casos JAK2 negativos.

El gen MPL codifica el receptor de la trombopoyetina, un factor de crecimiento que regula la producción de progenitores hematopoyéticos y plaquetas. Las mutaciones más frecuentes son la W515K y la W515L y se han descrito en el 5% de las MFM y en el 1 % de TE.

OBJETIVOS:

Analizar la presencia de mutaciones de MPL en una población de pacientes con MFP y TE en los que no se ha detectado mutación JAK2 V617F ni de CALR .

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se han analizado muestras de más de 400 pacientes de nuestro centro durante el año 2014.

Se ha extraído ADN de sangre total periférica mediante extracción automática con el sistema Qiacube. Las mutaciones de CALR se realizaron mediante PCR y análisis en un secuenciador automático Abi Prism 3100 (Genescan-PCR) utilizando oligonucleótidos marcados con fluorocromos y se analizaron con el Software Genemapper.

Las mutaciones en el exón 10 de MPL se analizaron mediante una PCR a tiempo real con sondas Taqman diseñadas para hibridar específicamente con el alelo correspondiente que permite la detección de las mutaciones MPL W515K y W515L.

RESULTADOS:

De los 400 casos estudiados 202 han resultado JAK2 negativos. De estos hemos encontrado la mutación de la CALR en 62 casos (30.7%) y 140 casos han sido CALR negativos. Hemos estudiado la mutación de MPL en 29 casos de Mielofibrosis y CALR negativos, de estos 7 eran MPL positivos (24%) y 22 negativos.

CONCLUSIONES:

El análisis de las mutaciones en el exón 10 de MPL se considera de gran utilidad para un mejor diagnóstico de la TE y la MFP en los pacientes negativos para la mutación JAK2 y para CALR.

Esta técnica debería implantarse en los laboratorios de diagnóstico molecular de los síndromes mieloproliferativos crónicos filadelfia negativos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 097

INCIDENCIA DE TUMORES INFILTRANTES Y METASTÁSICOS EN BIOPSIAS DE MAMA EN EL HOSPITAL DON BENITO - VILLANUEVA DE LA SERENA

Autor/a/s: Fátima Delgado Bautista / Paloma Díaz Díaz

Centro de trabajo: Hospital Don Benito - Villanueva de la Serena

Localidad: Don Benito

Correo electrónico del primer firmante: fatima.delgadob.fdb@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Incidencia de tumores infiltrantes y metastásicos en biopsias de mama en un Hospital Comarcal.

OBJETIVOS:

Analizar los casos de biopsias de mama, teniendo en cuenta los medios con los que cuenta un hospital comarcal.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Análisis estadístico de muestras de mama procesadas durante 2014. Teniendo en cuenta el procesamiento histológico, tinción de rutina (HE), pruebas inmunohistoquímicas (Receptor de Estrógenos, Receptor de Progesterona, Ki 67, Her2, Cerb-B2, P63, E-Cadherina), así como todas las pruebas que es necesario realizar hasta llegar al diagnóstico final.

RESULTADOS:

De un total de 362 muestras de biopsias de mama procesadas durante 2014, podemos observar:

Que 120 de los casos de biopsias de mama, o el 33,15%, fueron diagnosticadas con la presencia de un tumor infiltrante o metastásico.

En algunas ocasiones, este tipo de tumores precisa de ciertas técnicas diagnósticas, SISH Y MAMAPRINT. En el laboratorio de nuestro hospital no disponemos de los medios necesarios para realizarlas, por tanto, enviamos las muestras correspondientes a analizar a los laboratorios de los hospitales de referencia más cercanos.

De todos los casos positivos, el 12,81% de muestras del total de biopsias de mama, fueron derivadas a un hospital de referencia para concluir el estudio anatomopatológico. Este porcentaje de biopsias de mama se ve afectado por un retraso en el diagnóstico, ya que al precisar de la realización de la prueba confirmatoria definitiva, debemos enviar las muestras a otros laboratorios.

CONCLUSIONES:

Concluimos que tratándose de un Hospital Comarcal, y ante la incidencia de tumores infiltrantes y metastásicos de mama, el 12,81% de los casos, se ven afectados por cierto retraso, lo cual influye sobre las pacientes en la rapidez con la que se aborda su enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 098

RELACIÓN ENTRE ALTERACIONES CITOLÓGICAS Y GENOTIPO DE PAPILOMAVIRUS HUMANO EN UNA POBLACION DE MUJERES JÓVENES.

Autor/a/s: RIVAS MARCOS María Belén, GARRIDO GALLEGO Juan José, GERVÁS RÍOS Ruth, ATIENZA REBOLLAR Laura, MOYANO SANZ Estefanía, NUÑEZ GARCÍA María Antonia, GUTIÉRREZ GARROTE Enriqueta, HERNÁNDEZ SÁNCHEZ Sonia María.

Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de Salamanca

Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: berja@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La infección por papilomavirus humano (VPH) es muy frecuente en nuestro medio, y se relaciona con diferentes alteraciones citológicas cervicales, como lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado (LSIL), de alto grado (HSIL) y carcinomas de cérvix.

OBJETIVOS:

Conocer la prevalencia de las alteraciones citológicas y el genotipado de VPH en mujeres jóvenes, de nuestra población de referencia.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio retrospectivo observacional descriptivo de 140 mujeres, de entre 15 y 35 años, que acudieron, de manera consecutiva a nuestro Servicio, entre Agosto-2013 y Febrero-2014, para estudio morfológico de citología cervical convencional, y que posteriormente se le realizó análisis de ADN para VPH.

El estudio morfológico, usó citología líquida (ThinPrep® Pap Test) para Papanicolaou. Del material genético se extrajo el ADN del VPH para su amplificación e hibridación en arrays de baja densidad (Genomica) para 35 tipos de VPH.

RESULTADOS:

La edad media de las pacientes fue de 25,39 años. Presentaron lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado 117 pacientes (83,6%), de alto grado 11 pacientes (7,9%) y 12 pacientes (8,6%) mostraron células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS).

El 88,6% de los VPH detectados fueron de alto riesgo oncogénico (virus 16 y 51), y presentaban co-infección por 2 o más virus un 51,4% de las pacientes. El 87,8% de pacientes con diagnóstico citológico de LSIL, y el 100% de las diagnosticadas de ASCUS tenían VPH de alto riesgo.

CONCLUSIONES:

En nuestro medio, y en mujeres jóvenes, la infección de VPH es con mayor frecuencia por genotipos de alto riesgo oncogénico. En la mitad de las pacientes se identificó infección múltiple, por al menos dos tipos diferentes de VPH. Aunque la prevalencia de la infección se asocia con la edad, mas de la mitad de las pacientes eran menores de 25 años, y al aumentar la edad, también lo hacen las lesiones diagnosticadas con LSIL y HSIL. Por todo ello es de especial interés el seguimiento citológico y el genotipado de estas pacientes para la prevención del carcinoma de cérvix.

DIAGNÓSTICO MULTIDISCIPLINAR DE CRIPTOCOCOSIS DISEMINADA.

Autor/a/s: RIVAS MARCOS María Belén, ALBA SAÁ Francisco, PÉREZ SÁNCHEZ Angustias, RÓDENAS FERNÁNDEZ Roberto, GARCÍA MARTÍNEZ María Isabel, ORDÁS PIÑEIRO Alejandra, GONZÁLEZ VELASCO Cristina.

Centro de trabajo: Complejo Asistencial Universitario de Salamanca

Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: berja@hotmail.com

RESUMEN:

IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CRIPTOCOCO GATTII.

INTRODUCCIÓN:

La criptococosis es una enfermedad fúngica potencialmente mortal, sobretudo en estados de inmunodeficiencia, causada por variantes de *Cryptococcus*. El *Cryptococcus gattii*, es una levadura encapsulada, con doble membrana celular típica, que se encuentra en terrenos contaminados por heces de aves, y en madera vieja, vegetales y polvo.

El tracto respiratorio es su puerta de entrada más frecuente, y posee predilección por colonizar el sistema nervioso central. La piel puede afectarse de manera excepcional, como una infección cutánea primaria por inoculación, o de forma secundaria, en la infección diseminada.

OBJETIVO:

Conocer las diversas técnicas histoquímicas aplicadas, para poder diagnosticar una criptococosis, revisando un caso clínico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El diagnóstico de infección fúngica en diferentes muestras de un paciente, hizo necesaria la realización de diversas técnicas histoquímicas para poder establecer un diagnóstico diferencial.

Se realizaron como técnicas histoquímicas, hematoxilina-eosina, PAS, plata metenamina, hierro coloidal, y Masson-Fontana, sobre biopsia de pápula eritematosa supraciliar derecha, con sospecha clínica de carcinoma basocelular. Además se realizó tinción de Papanicolaou en el lavado y cepillado bronquiales.

RESULTADOS:

Se identificó al hongo con las técnicas de hematoxilina-eosina, en tejido, y Papanicolaou en citología. La membrana celular se tiñó intensamente con las técnicas de PAS y plata metenamina. Además con la técnica de Masson-Fontana se demostró la presencia de melanina. La cápsula del hongo se tiñó con la técnica de hierro coloidal.

CONCLUSIONES:

Las lesiones cutáneas pueden ser la primera manifestación de una infección fúngica diseminada, por *Cryptococcus gattii*.

La utilización de técnicas histológicas sobre estas lesiones, fueron fundamentales para un diagnóstico, precoz y de certeza, de dicha infección, siendo más rápidas que el cultivo microbiológico, y en consecuencia, clave para la evolución del paciente, ya que se inició de inmediato su tratamiento antifúngico.

ESTUDIO INMUNO-HISTOQUÍMICO EN MELANOMA MALIGNO URETRAL

Autor/a/s: PACIOS PACIOS María Ángeles, RODRIGUEZ GONZÁLEZ María Carmen, ALBA SAÁ Francisco, MACÍAS GONZÁLEZ Noelia, ALONSO MORRONGO Elena Julia, CRUZ SÁNCHEZ Miguel Ángel.

Centro de trabajo: COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: franalbasaa@gmail.com

RESUMEN:**INTRODUCCIÓN:**

El melanoma uretral es una lesión rara, supone el 0,1 0,2 % de los melanomas y el 4 % de los tumores uretrales primarios. Su localización más frecuente es el meato distal de la uretra. Las lesiones precursoras son difíciles de identificar. Basándose en su origen, se consideran melanomas de la mucosa, presentando importantes diferencias con los melanomas cutáneos.

OBJETIVOS:

Dar a conocer la batería de técnicas especiales que fueron necesarias para facilitar el diagnóstico anatomopatológico de este tipo de lesión, siendo su diagnóstico clínico inicial de tumoración uretral sin filiar.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recibió de quirófano una muestra con múltiples fragmentos irregulares anfractuados de superficie irregular, coloración grisácea-blancuecina con áreas de necrosis y consistencia aumentada. Se realizó el procesamiento histológico protocolizado en nuestro Servicio, para cualquier muestra de tejido celular. Los cortes histológicos de hematoxilina y eosina no fueron concluyentes para llegar a un diagnóstico, por lo que se inició estudio inmunohistoquímico.

RESULTADOS:

El estudio inmunohistoquímico fue positivo en las células tumorales para S100, HMB45, MelanA, Vimentina y p53. Y negativas para Citoqueratinas, actina, desmina, MyoD1 y CD99.

Con estos hallazgos, el diagnóstico anatomo-patológico fue de Melanoma Maligno Amelanótico.

CONCLUSIONES:

La importancia del caso reside en la dificultad diagnóstica que plantea, ya que clínicamente la lesión se puede confundir con pólipos, carúnculas, prolapsos mucosos, chancros u otros tumores malignos. La batería de anticuerpos utilizados en el estudio inmunohistoquímico fueron claves para llegar al diagnóstico anatomo-patológico de Melanoma Maligno Amelanótico.

SEGUIMIENTO DE PACIENTES CON ASC-US, PROCEDENTES DEL CRIBADO DE CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO DE LA JUNTA DE CASTILLA Y LEÓN.

Autor/a/s: (Alonso Monje Ana Luisa, Salas Valián José Santos, Santín Piedrafita Engracia, Castro Val Paz, Pérez González Maximina, González Herbón José María, Turiel Vicente Rosario, Baltasar Moreira María Luz, Lage Vázquez Gonzalo)

RESUMEN:

INTRODUCCION:

De todos los cambios introducidos por el Sistema Bethesda, en 1988, para el diagnóstico citológico cervicovaginal, el más controvertido ha sido el concepto de células atípicas de significado indeterminado (ASC-US), por las decisiones terapéuticas que conlleva ya que las pacientes pueden ser sometidas a tratamiento o a seguimiento.

La clasificación de Bethesda diferencia tres tipos de ASCUS:

ASC-US: Células escamosas atípicas de significado indeterminado.

ASC-H: Células escamosas atípicas, no es posible descartar H-SIL.

AG-US: Células glandulares atípicas de significado indeterminado.

Aproximadamente el 5,2% de los diagnósticos citológicos son ASC-US, aunque este porcentaje es variable según los laboratorios. Alrededor del 10% al 20% de las mujeres que presentan ASC-US, se detecta un CIN2 ó CIN3 durante el seguimiento.

La pauta a seguir ante un diagnóstico de ASC-US es la determinación del HPV, si este es positivo y de alto grado, se hace Colposcopia y/o Biopsia y si el HPV es negativo, se consideran cambios reactivos y se hace seguimiento.

OBJETIVOS:

Determinar la trascendencia del diagnóstico de ASCUS en mujeres procedentes del programa de Cribado para el cáncer de cuello de útero, analizando el seguimiento y evolución de las mismas en Atención Especializada.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Recopilamos y seguimos a 159 pacientes remitidas a Atención Especializada del Hospital de León por diagnóstico citológico de ASCUS, en el programa de cribado de La Junta de Castilla y León.

Se realiza el seguimiento de estas pacientes, en las consultas de ginecología, con colposcopia, citología, biopsia y detección y tipificación de HPV (CLART® HPV2), según los hallazgos encontrados.

RESULTADOS:

-La media de edad de las pacientes recibidas con diagnóstico de ASC-US fue de 45,92 años, con un rango entre 25 y 66 años.

-De los 159 casos remitidos, 118 fueron ASC-US, 22 ASC-H y 19 AG-US.

-De los 159 casos el 51,6% fue negativo para VPH, el 47,1% fue positivo para VPH de alto riesgo y el 1.3% para VPH de bajo riesgo

-De los 159 casos en 92 no se demostró lesión, 20 mantuvieron persistencia de virus sin lesión, 4 pólipo cervical, 14 lesiones de bajo grado, 19 lesiones de alto grado, 5 carcinomas in situ, 2 carcinomas escamosos y 3 adenocarcinomas.

CONCLUSIONES:

El 17,6% de las pacientes remitidas a especializada con el diagnóstico de ASC-US, procedentes del programa de cribado, mostraron lesión de CIN 2 +.

La sensibilidad de la detección de VPH de alto riesgo, en el grupo de pacientes con ASC-US para detectar lesión CIN 2+ es del 92,8% y su especificidad del 62,5%. Esto supone un Valor Predictivo Positivo del 34,6 % y un Valor Predictivo Negativo del 97,6 %.

EGFR PRUEBA DIAGNÓSTICA

Autor/a/s: López Aguado, Rubén;;Ballesteros López, Clementina;Cecilio Ramos, Felipa; Ruiz Cano, Gema; Romero Gallego, Agustina; Rodríguez Santiago, Olga; Amigo Fernández Teresa.

Centro de trabajo: Laboratorio de Anatomía Patológica del Complejo Asistencial de Zamora. Avenida Requejo 35.

Localidad: ZAMORA

Correo electrónico del primer firmante: rlopezag@saludcastillayleon.es.

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El EGFR está sobreexpresado en muchos tumores y su expresión está asociada a la agresividad del tumor, peor pronóstico y resistencia al tratamiento. Por ello el diagnóstico anatomopatológico se debe completar con análisis de biología molecular. Dichos análisis requieren seguir estrictos protocolos desde que se extrae la muestra hasta la emisión del resultado para obtener una muestra en cantidad y calidad suficiente.

MATERIAL:

Se realiza la determinación de mutación EGFR en 115 casos de pacientes diagnosticados de carcinoma de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), procedente de biopsia y punción (PAAF).

MÉTODO:

Se realiza mediante análisis PCR a tiempo real con el analizador Cobas z 480 que está diseñado para la detección e identificación de 41 mutaciones en los exones 18, 19 20 y 21 del gen EGFR, en ADN obtenido de tejido tumoral humano con presencia de cáncer de pulmón de células no pequeñas.

OBJETIVO:

Detectar en el Complejo Asistencial de Zamora los pacientes con carcinomas de pulmón no microcítico con mutación en el gen EGFR para su tratamiento.

RESULTADOS:

Se detectan 10 mutaciones en los 115 análisis realizados en los años 2013 y 2014. 9 corresponden a adenocarcinomas y 1 a carcinoma epidermoide.

CONCLUSIONES:

La determinación del gen EGFR es necesaria en la práctica clínica para seleccionar pacientes que pueden ser candidatos a tratamientos específicos.

TECNICAS DE TINCIÓN EN ANATOMIA PATOLÓGICA.

Autor/a/s: Fernández Collar Eva, Villaplana Morales Montserrat, Collado Mengual Sandra, Rodríguez Guerrero Yolanda, De Jesus Rodríguez Lidia, Padrós Erra María

Centro de trabajo: Hospital Universitari Joan XXIII de Tarragona

Localidad: Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: eva.fernandez.hj23.ics@gencat.cat

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los patólogos utilizan la tinción de la hematoxilina-eosina como tinción de rutina. Hay varios tipos de hematoxilina i de eosina . Es una tinción topográfica.El método es el mismo para cada laboratorio, pero la gran variedad de tonalidades que da la eosina junto con las diferentes hematoxilinas la confiere una gran riqueza de matices.Las hematoxilinas más utilizadas son las de Mayer y de Harris. La calidad de una buena tinción va unida a la fijación.

Después de mirar las hematoxilinas de los casos habrá algunos que requerirán otros estudios u otras técnicas para visualizar mejor determinadas estructuras,depósitos de minerales, de glucógeno o para dar un diagnóstico .Para estos casos hay una serie de técnicas de tinción muy utilizadas. Para algunas biopsias en concreto hay una serie de técnicas que se hacen rutinariamente.

Biopsia renal : PAS, Tricrómico de Masson, Plata de Jones(o Plata Metenamina) Biopsia hepática: Pas, Fe, Tricrómico de Masson, Reticulina. Ganglio: Giemsa parasitos, Pas, Reticulina. Para visualizar hongos,Grocot.

Para citología la técnica de rutina es la técnica del Papanicolau.Aquí se utiliza tres colorantes: Hematoxilina,Orange, Ea-50.

En citología existe otra técnica muy utilizada para citología exfoliativa es el Diff-Quick o llamado giemsa rápido.Las extensiones aquí son fijadas al aire.

OBJETIVOS:

Mostrar cuales son las técnicas de tinción utilizadas en nuestro servicio con más frecuencia tanto para biopsias como para citologías

MATERIAL Y MÉTODOS:

Preparamos cortes histológicos de 3 a 5 micras. Los dejamos en la estufa de 60° una media hora. Se desparafinan, este proceso consiste en pasarlos por una batería de xiloles y alcoholes decrecientes hasta el agua .El porta con el tejido está preparado para poder empezar la técnica.

Para las citologías se fijan en alcohol ,también se utilizan citologías procesadas por citología líquida.

RESULTADOS:

Pas:. Fijacion en formol tamponado.Cortes de 3 a 5 micras. Polisacáridos neutros,glucógeno, hongos y membranas basales-color magenta intenso. Nucleo-azul oscuro.

Esta técnica se le llama histoquímica,el fundamento es que reconoce un grupo químico.Un grupo alcohol pasa a grupo aldehído por una serie de reacciones.

Tricrómico de Masson: Fijación en formol tamponado. Cortes de 3 a 5 micras.Todos los tipos de tricrómicos tienen tres colorantes. Nucleo-variaciones de gris y negro.Músculo-variaciones de rojo. Citoplasma- también rojo .Colágeno-azul(podría ser verde si el tercer colorante fuera el verde luz)

Reticulina. Fijacion en formol tamponado.Cortes de 3 a 5 micras.Las fibras de reticulina-color negro. El colágeno- gris. Nucleos y tinción de fondo-de rosa a rojo.

Plata de Jones.Fijación en formol.Cortes de 2 a 3 micras.Membranas basales-negras. Nucleo azul oscuro. Fondo-color rosa ,si se contrasta con hematoxilina eosina.

Fibras elásticas. Fijacion en formol. Cortes de 3 a 5 micras. El desparafinado aquí es hasta alcohol absoluto. Fibras elásticas-azul-negro/ purpura. Colágeno-rojo. Fondo- amarillento.La deshidratación es a partir del alcohol absoluto y el paso ha de ser rápido porque pierde color.

Rojo congo.Fijación en formol. Cortes de 8 a 10 micras. Al microscópio óptico: Amiloide-rosa anaranjado. Nucleo-azul.

Con el microscópio de luz polarizada :Amiloide- verde manzana fluorescente.Fondo-azul oscuro.

Oil red.(para extensiones citológicas).Fijadas en formol 45 minutos. El montaje es con medio acuoso. Los depósitos de grasa se ven de color rojo.Fondo-azul

Grocot, Zielh-Nielsen,son otras de las técnicas utilizadas tanto para citologías como para biopsias.

CONCLUSIÓN:

Las nuevas técnicas en anatomía patológica,no han dejado de lado a las tinciones. Se han automatizado y esto ha reducido el tiempo de trabajo.Y las tinciones continúan apareciendo en todas las listas de trabajo de inclusión. Hay algunas que se siguen realizando a mano.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 133

SERPINE1 COMO MARCADOR DE MAL PRONÓSTICO EN PACIENTES CON CARCINOMA ESCAMOSO DE CABEZA Y CUELLO.

Autor/a/s: Navas Jiménez, Luis Carlos; Arroyo Solera, Irene; Gallardo Alcañiz, Alberto; Téllez Gabriel, Marta; Céspedes Navarro, M^a Virtudes; Casanova Rigat, Isolda; León Vintró, Xavier; Quer Agustí, Miquel; López Pousa, Antonio; Barnadas Molins, Agustí; Mangues Bafalluy, Ramon; Pavón Ribas, Miguel Angel.

Centro de trabajo: Grupo de Oncogénesis y Antitumorales (GOA), Instituto de Investigaciones Biomédicas Sant Pau (IIB-Sant Pau) / CIBER-BBN

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: lnavas@santpau.cat

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El carcinoma escamoso de Cabeza y Cuello (CECC) es el sexto cáncer más frecuente. El tratamiento habitual de los pacientes con CECC es multimodal y conlleva la utilización de quimioterapia, generalmente basada en cisplatino, radioterapia y/o cirugía. El tratamiento con cisplatino en enfermos de CECC conduce a las células tumorales a la muerte, sin embargo, algunas presentan resistencia. Además un alto porcentaje de pacientes sufren metástasis o desarrollan tumores secundarios. El desarrollo de nuevos marcadores moleculares podría ser útil para anticipar la respuesta del tumor y mejorar el tratamiento y la calidad de vida del paciente. Los resultados obtenidos en un estudio previo de microarrays realizado en nuestro laboratorio, sugieren que la expresión de SERPINE1 podría utilizarse como marcador de mal pronóstico en pacientes con CECC.

OBJETIVOS:

- 1) Determinar los niveles de expresión de SERPINE1 en líneas celulares de CECC y su asociación a la sensibilidad/resistencia a cisplatino;
- 2) Analizar la relación entre los niveles de expresión de SERPINE1 y la evolución clínica del paciente.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En un panel de líneas de CECC (UM-SCC-22B, UM-SCC-74B, SCC-9, SCC-25 y UM-SCC-22A) realizamos ensayos de citotoxicidad mediante XTT con un rango de concentraciones de cisplatino crecientes (2.5-40µM) durante 48h de exposición para calcular la concentración de fármaco que inhibe el crecimiento del 50% de las células (CI50).

Determinamos los niveles de expresión de ARNm de SERPINE1 mediante PCR cuantitativa a tiempo real en un panel de líneas de CECC utilizando un analizador ABI PRISM 7000 y los juegos pre-diseñados para SERPINE1 (Hs01126607_g1) y HPRT1 (Hs99999909_m1) de sonda y primers Taqman. El gen HPRT1 se utilizó como control endógeno y el ARNm obtenido de la línea celular de CECC UM-SCC-22A se utilizó como muestra de calibración. El valor de expresión de SERPINE1 se obtuvo aplicando el método de cuantificación comparativo (2^{-CT}). Mediante inmunohistoquímica evaluamos los niveles de expresión de SERPINE1 en un grupo de 80 biopsias tumorales incluidas en parafina de pacientes de CECC de un estudio retrospectivo, las cuáles se inmunotñieron con un anticuerpo monoclonal anti-SERPINE1 (Abcam-MAB10390). Las muestras fueron clasificadas en tres subgrupos en base a la intensidad de tinción.

RESULTADOS:

En el ensayo de citotoxicidad identificamos dos líneas celulares resistentes al fármaco, SCC-9 y SCC-25, y otras dos líneas que eran sensibles al cisplatino, UM-SCC-22A y UM-SCC-22B. Las líneas celulares con mayor nivel de expresión del gen SERPINE1 presentaban mayor resistencia al fármaco (SCC-9 y SCC-25) y aquellas líneas con menor nivel de expresión eran más sensibles al cisplatino (UM-SCC-22A y UM-SCC-22B).

Mediante la tinción de inmunohistoquímica de SERPINE1 de las muestras de pacientes observamos que las células tumorales positivas mostraban un patrón de tinción nuclear. Veintinueve biopsias mostraron una tinción positiva de intensidad elevada (+++), 26 mostraron una tinción positiva de intensidad intermedia (++) y 25 tinción negativa o de intensidad leve (-/+). Las curvas Kaplan-Meier mostraron que la expresión de SERPINE1 se asociaba significativamente con la supervivencia global ($p < 0,05$). Los pacientes con tumores que mostraban una tinción de SERPINE1 de intensidad elevada tenían una supervivencia más corta que los pacientes con tumores que presentaban una tinción de intensidad baja o intermedia.

CONCLUSIÓN:

La expresión del gen SERPINE1 en biopsias tumorales pre-tratamiento se asocia con una baja supervivencia en pacientes con carcinoma escamoso de cabeza y cuello; además, una expresión elevada del gen SERPINE1 se asocia con resistencia a cisplatino en líneas celulares de CECC.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 140

ESTUDIO DE MUTACIONES DE KRAS EN CANCER COLORRECTAL EN NUESTRO MEDIO

Autor/a/s: Amador Rodríguez María Elena, Millán Martín Juan Carlos, Aguiar Gil Adelaida, Molina Ramírez María Candelaria, Martín Vega José Valerio, Bolaños del Rosario María del Carmen

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrin

Localidad: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: mamarod@gobiernodecanarias.org

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cáncer colorrectal (CCR) es la patología tumoral con mayor incidencia en los países occidentales y junto con los de pulmón y mama, los de mayor mortalidad. En España, el CCR es el tercer tumor en frecuencia en varones, por detrás del de pulmón y próstata, y en mujeres es el segundo por detrás del cáncer de mama. Al diagnóstico, el 25%

de los tumores de origen colorrectal son metastásicos (Estadio IV). En la literatura se describe que existe entre un 40-50% de mutaciones del protooncogén KRAS. Actualmente, es necesario conocer el estado mutacional del KRAS para seleccionar el tratamiento con terapias biológicas anti-EGFR en este estadio tumoral.

OBJETIVO:

Analizar el estado de las mutaciones en el protooncogén KRAS en pacientes con cáncer colorrectal metastásico de nuestro hospital, para valorar el uso de las terapias biológicas anti-EGFR.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron 79 muestras de DNA obtenidas de biopsia o de citologías de tejido colónico representativas del tumor, impregnadas en parafina y fijadas en formalina. Del total de las muestras, el 96.2% fueron biopsias, el 2.5% de citología y el 1.3% de raspado celular. Se determinó la presencia o ausencia de mutación del protooncogén KRAS con la prueba de mutación cobas KRAS® que permite identificar 21 mutaciones somáticas en los codones 12, 13 y 61. Se utilizó la metodología de PCR a tiempo real en un equipo cobas z480® de Roche Diagnostics.

RESULTADOS:

Tras analizar las 79 muestras para el protooncogén KRAS se encontraron mutaciones en 35 muestras: 34 en el codón 12/13 (97.1%), 1 con mutación en el codón 61 (2.9%) y 41 muestras en estado nativo (no mutado) (51.9%).

CONCLUSIONES:

En nuestro estudio encontramos un 44.3% de mutaciones para el protooncogén KRAS, principalmente en los codones 12 y 13 (97.1%). El 51.9% de las muestras tenían el protooncogén KRAS en estado nativo (no mutado) y el 3.8% fueron muestras insuficientes. Nuestros datos coinciden con estudios previos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 160

TINCION Y VISUALIZACION DE ASBESTOS : EN AUTOPSIA

Autor/a/s: Miguel Gallardo Lara, Larraya San Roman Idoia, Aguirre Bert Elisabet, Capellan Güemes Joaquina y Saiz Ruiz de Loizaga Marta

Centro de trabajo: O.S.I. GOIERRI-ALTO UROLA

Localidad: Zumarraga

Correo electrónico del primer firmante: larami13.lm@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En griego (Inagotable e Indestructible).

Mineral compuesto de silicato de calcio y magnesio, de origen natural se presenta en cristales formando haces que se van agrupando y que pueden separarse en hilos delgados resistentes al calor y a sustancias químicas. Se destruyen a temperaturas superiores a 800°C y se dividen en dos grupos:

- Asbesto serpentina, es el que tiene fibras curvadas, incluye el mineral crisótilo o amianto blanco, que es el mas usado.
- Asbesto anfíbólico, es el que tiene fibras rectas, incluye los minerales amosita o asbesto marrón, crocidolita o asbesto azul, antofilita o asbesto amarillo y la tremolita y la actinolita.

Usados en la construcción como aislantes, industria de automoción, pinturas, plásticos etc.

Cuando se inhalan las fibras de asbestos se alojan en los pulmones con el riesgo de desarrollar un mesotelioma. La prueba mas fiable es una biopsia de pulmón o una broncoscopia que es menos invasiva.

OBJETIVOS:

Identificar las fibras de asbesto.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se machacan 4 gramos de pulmón en fresco y se digieren en hipoclorito sódico (lejía) durante 24 o 48 h, a continuación se centrifuga a 1500 rpm durante 15 min. Decantar el sobrenadante y con el sedimento, hacer una extensión, dejar fijando en alcohol de 96° de 20-30 minutos, seguidamente pasar por baños de alcohol de 100°, xilol y montar, y ya esta listo para ver al microscopio.

Por otro lado se pueden hacer Técnicas Histoquímicas como el Hierro y el Diff-Quick, en este ultimo no requiere de fijación en alcohol de 96°.

RESULTADOS:

Visualización de cuerpos de asbestos.

- Sin tinción: fibras de asbesto color tabaco.
- Hierro (Fe) : fibras de asbesto azul verdoso.
- Diff-Quick: fibras de asbesto de color caramelo.

CONCLUSIÓN:

Para un diagnostico de certeza de Mesotelioma es necesario el estudio histológico mediante biopsia pleural esta debe de ser lo suficientemente amplia, el material procedente de autopsias o toracotomía es mejor.

Ofrece un diagnostico certero y definitivo

para el análisis de biomarcadores y diferentes técnicas solicitadas, en el protocolo establecido.

De las citologías líquidas, obtendremos, material complementario, a la biopsia para realizar dichas técnicas (bloque celular) .

Evitar una re - biopsia y todo lo que ello implica (otra intervención, molestias para el paciente, etc)

MATERIALES Y MÉTODOS:

Una vez incluida en parafina, la biopsia, esta pasa a la zona de corte, donde se realizara el protocolo establecido, para el corte en microtomo:

Limpieza del microtomo

Seriacion de 11 portas :

1°-2° porta Hematoxilina seriada en porta convencional a 3 micras

3° porta Azul alcian o Pas - Azul alcian 2 cortes a 3 micras en el porta convencional

4°-8° portas tecnicas de Inmuno y FISH 2 cortes de 3 micras en los portas (aunque estén cortados ya , la selección de inmuno y FISH, se hace posterior). Guardar en nevera 4°

9°-10° portas Dna 2 cortes de 5 micras en portas convecionales (purificación de Dna solo cuando esta indicado, aunque ya estén cortados, también recomienda cambio de cuchilla y limpieza de la zona) Guardar en nevera 4 °

11° porta de Hematoxilina final para estimación del contenido de los portas intermedios.

Normalmente estas biopsias, vienen acompañadas de citologías(Bas, Cepillados, Wang), a los que tras realizar tincion de rutina y tras valorarlas el patólogo, se realiza bloque celular, a las positivas:

- Centrifugar 6' a 1600 rpm
- Quitar sobrenadante
- Anadir gota Hematoxilina y mezclar con el boton
- Poner Histogel en el horno hora aproximadamente a 65°
- Anadir Histogel al botón (igual volumen) mezclar con el botón
- Centrifugar 10' a 2500 rpm
- Nevera 20'
- Atemperar, desmoldar y pasar al procesador
- Realizar un corte para Hematoxilina
- Guardar bloque celular para realizar técnicas de protocolo de cáncer de pulmón.

RESULTADOS:

Cortes de calidad optima-Evitamos reorientar el bloque

Máximo aprovechamiento de la biopsia

Conseguir material citologico, que complementa a la biopsia, de calidad

CONCLUSIONES:

Es muy importante la habilidad del TEAP y C en la manipulación de estas muestras en los distintos protocolos establecidos. La capacidad de trabajar de manera metódica, paciente y responsable dada la importancia que tiene el trabajo que se realiza, ya que a partir de los datos obtenidos se darán diagnósticos.

Ampliar la obtención de material, para estudios de biomarcadores con los bloques celulares(citologías positivas)

Con la aplicación de este tipo de protocolo conseguimos reducir el tiempo de respuesta de diagnostico, un máximo aprovechamiento del material, evitando con ello una nueva intervención sobre el paciente (re-biopsia), personalización del tratamiento a aplicar+

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 163

PROTOCOLO APLICADO A BIOPSIAS Y CITOLOGIAS DE CANCER DE PULMON

Autor/a/s: MARIA LUISA IZQUIER HERNANDEZ,SUSANA ZAMBRANO CONTIÑAS

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO INSULAR-MATERNAL INFANTIL

Localidad: LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Correo electrónico del primer firmante: mguizq@hotmail.com

RESUMEN:

El cáncer de pulmón, constituye la primera causa de muerte, por cáncer. Por lo que presenta, un importante problema sanitario. El habito tabaquico, es el principal responsable de cáncer de pulmón y solo 10%-15% de estos tumores, se diagnostican en pacientes no fumadores. Por ello desde el 2011, se establece unas series de recomendaciones a nivel nacional (sociedad española de oncología y sociedad española de anatomía patológica) para el análisis de biomarcadores en pacientes con Carcinoma pulmón de células no pequeñas (CPCNP) y enfermedad avanzada, que esta en constante revisión, ante las evidencias actuales, con respecto a la determinación de biomarcadores.

Por ello, en los laboratorios de Anatomía Patológica, se establece un protocolo de corte, para las biopsias de Cáncer de Pulmón, y obtención de bloques celulares

OBJETIVOS:

Obtener el máximo aprovechamiento de una biopsia de Cáncer de Pulmón, consiguiendo el mayor numero de cortes de calidad optima

APORTE DEL BLOQUE CELULAR DEL MATERIAL COAGULADO ESPONTÁNEAMENTE EN CITOLOGÍA

Autor/a/s: Alonso Herrero, Laura; Beorlegui Arteta, Carmen; Santamaría Martínez, Mercedes

Centro de trabajo: Anatomía Patológica A; Complejo Hospitalario de Navarra

Localidad: Pamplona

Correo electrónico del primer firmante: laloner@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La citología junto con el bloque celular (BC) del material que se encuentra en suspensión en algunas muestras ha demostrado ser más eficaz que la citología sola. El BC contribuye a la confirmación del diagnóstico y proporciona material para la realización de técnicas complementarias. Ayuda a la estadificación y a conocer la localización de tumores en lesiones con tumor primario desconocido, y proporciona información para el pronóstico y seguimiento de pacientes con tumores malignos y con lesiones inflamatorias y benignas no inflamatorias. Este procedimiento se aplica fundamentalmente en material de lavado de aguja de PAAF y en derrames, en los que es particularmente difícil diferenciar mesotelio reactivo de metástasis.

El objetivo de este estudio es determinar la contribución del BC de material coagulado de forma espontánea al diagnóstico, mediante comparación de los diagnósticos de la citología convencional y del BC.

MATERIAL

El estudio se realizó en la Sección de Citología del Servicio de Anatomía Patológica A del Complejo Hospitalario de Navarra. Entre los años 2000 y 2014 se recogieron 1926 precipitados espontáneos, el 80% se recogieron durante el procesamiento de PAAF y el 15,3% a partir de derrames. Se procesaron histológicamente como BC: se fijaron en formol, se incluyeron en parafina y, de ellos, se realizaron cortes a 4 micras que se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. Dependiendo de la historia clínica y del resultado citológico, se solicitaron técnicas de IHQ para una mayor aproximación diagnóstica o diagnóstico definitivo. La información referente a los BC y sus citologías se consultó en los registros electrónicos de Anatomía Patológica A. Todos los datos se analizaron con SPSS v.15.0.

RESULTADOS:

Los resultados tanto de la citología como del BC se clasificaron en las categorías negativo, sospecha y positivo para células neoplásicas. El 14.5% de las citologías y el 15.4% de los BC no contenía material suficiente y/o adecuado para diagnóstico. La concordancia diagnóstica fue del 73.7%, algo menor en PAAF que en derrames (73.5 vs. 77.0%). Se realizó IHQ en el 39.4% de los BC y en el 3.2% de las citologías. El 42.6% de los BC aportaron información para el diagnóstico, determinándolo en el 10.7% de los casos y complementándolo con IHQ en el 30.1% restante. Esta contribución, tanto global como determinante, es mayor en PAAF (45.6 y 11.5%) que en derrames (26.1 y 6.5%).

CONCLUSIONES:

1. La recogida del material precipitado espontáneamente durante el procesamiento de muestras citológicas y su posterior inclusión como BC ha aumentado la sensibilidad diagnóstica en un 42.6% cuando se compara con la eficacia de la citología convencional aislada.
2. Ha permitido determinar el diagnóstico definitivo del paciente en el 10.7% de los casos.

3. Los BC obtenidos de PAAF contribuyen más al diagnóstico (45.6%) que los obtenidos en derrames (26.1%).

UTILIDAD DEL CITOBLOQUE EN EL MANEJO DE MUESTRAS MÍNIMAS DE ENDOMETRIO

Autor/a/s: Alonso Herrero, Laura; Beorlegui Arteta, Carmen; Santamaría Martínez, Mercedes

Centro de trabajo: Anatomía Patológica A; Complejo Hospitalario de Navarra

Localidad: Pamplona

Correo electrónico del primer firmante: laloner@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Para obtener biopsias de endometrio en la práctica clínica se emplea habitualmente la cánula de Cornier. Generalmente se obtiene material cilíndrico de aspecto hemático o mucoso, aunque en ocasiones solo se obtiene material muy escaso y disgregado que es difícil de recoger con las pinzas y que, cuando se filtra sobre la cápsula, no siempre se rescata tras su inclusión en parafina. La recuperación del material celular contenido en un líquido se puede realizar con un equipamiento adecuado que permite obtener un bloque celular (BC), a pesar de que se desaconseja su empleo con soluciones tamponadas con fosfato.

OBJETIVOS:

Determinar si la realización de BC (Shandon®) a partir de biopsias de endometrio escasas y disgregadas fijadas en formol tamponado permite obtener material valorable para diagnóstico, y cuál es su contribución al mismo.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio ambispectivo realizado en el Servicio de Anatomía Patológica A del Complejo Hospitalario de Navarra. De enero de 2010 a diciembre de 2012 se recibieron 1561 biopsias de endometrio mientras que en un segundo periodo, de octubre de 2013 a diciembre de 2014, se recibieron 754 (32.6%), realizándose BC con el kit de Shandon® de algunas biopsias (disgregadas <3mm), a criterio del TEAP. Se comparan ambos periodos respecto a frecuencia de muestras difíciles de manejar y diagnóstico realizado (material adecuado, inadecuado, no se recupera material). La información se consultó en los registros electrónicos del servicio. Los datos se analizaron con SPSS v.15.0.

RESULTADOS:

El porcentaje de muestras consideradas difíciles de manejar es muy similar en ambos periodos (10.4 vs. 10.9%), aunque en el primero hay una frecuencia significativamente mayor de estas muestras en las que no se recuperó material tras su inclusión (21.6 vs. 7.4%). En el segundo periodo se realizaron 39 BC (48.1%), de los cuales solo en un caso (2.6%) no se recuperó material. El material recuperado resultó válido para diagnóstico en el 76,9% de los BC realizados, superior al 70,4% observado en el primer periodo.

CONCLUSIONES:

El uso de BC en el segundo periodo:

- 1) Permite obtener material válido para diagnóstico a partir de biopsias de endometrio escasas y disgregadas.
- 2) Disminuye la frecuencia de material no recuperado (21.6 vs. 7.4%).
- 3) Disminuye el porcentaje de material inadecuado para diagnóstico (19.8 vs. 29.6%).

COMPARACIÓN DE LA SENSIBILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR VIRUS DE EPSTEIN-BARR MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA DE LMP-1 E HIBRIDACIÓN IN SITU DE EBER

Autor/a/s: Estébanez Gallo, Ángel; Pumarejo Gómez, Enriqueta; Díaz García, María del Pilar; Azpiazu Gómez, María del Carmen; García Lavín, Rosa María; Cueto de la Riva, María Amelia; Rodríguez Bañuelos, María Isabel; Herrera Cisneros, María Dolores; Lorenzo Menezo, Soraya; Paz Legardo, Brenda; Santamaría Sustacha, Patricia; Hurtado Marijuán, María Isabel; Ortega Bezanilla, César; Cagigal Cobo, María Luisa

Centro de trabajo: Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla"

Localidad: Santander

Correo electrónico del primer firmante: aesga@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El virus de Epstein-Barr (EBV) pertenece a la familia herpesvirus compartiendo con ellos la capacidad de establecer una viremia en estado latente. La mayoría de las infecciones por EBV son subclínicas, estimándose que en torno a un 90% de la población puede presentar anticuerpos a EBV. Además, se encuentra asociado a patologías como la mononucleosis infecciosa y enfermedades proliferativas como el linfoma de Hodgkin, linfoma difuso de células B grandes, linfoma T angioinmunoblástico, linfoma de Burkitt o carcinoma nasofaríngeo. El diagnóstico positivo a infección por EBV es condición necesaria para el diagnóstico de alguna de estas patologías.

Durante la fase de infección latente se ha descrito la expresión de sólo 11 genes virales, siguiendo unos patrones que definen tres formas distintas de latencia. Entre estos genes se encuentra el gen que codifica dos pequeños fragmentos de RNA conocidos como EBER-1 y 2 y que se expresa en todos los patrones de latencia, y el gen codificante del antígeno de membrana LMP-1, que se encuentra únicamente en los patrones de latencia II y III.

	EBNA-1	EBNA-2, -3(A-C), -LP	LMP-1	LMP-2A/B	EBERS	BHRF1	
Latencia I	+	-	-	?	+	?	Linfoma de Burkitt
Latencia II	+	-	+	+	+	?	Linf. Hodgking, Linf. T angioinmunoblástico
Latencia III	+	+	+	+	+	+	Linf. B Difuso de células grandes, Mononucleosis

MATERIAL Y MÉTODOS:

En este estudio se han revisado un total de 71 muestras con sospecha de infección por EBV. De ellas se han seleccionado 25 muestras con un diagnóstico de enfermedad compatible con la expresión simultánea de EBER y LMP1 y a las que se les ha realizado ambas determinaciones.

	LMP-1	EBER
LBDCG		
+	3	3
-	0	0
S	100%	100%
MI		
+	3	5
-	2	0
S	60%	100%
LH		
+	5	6
-	3	2
S	63%	75%
LTA		
+	2	6
-	7	3
S	22%	67%

La determinación de EBER se realiza mediante hibridación in situ. Los cortes se someten a un proceso de desparafinación y rehidratación mediante baños sucesivos de xilol, alcohol absoluto, alcohol de 96° y agua destilada. Previo a la incubación se realiza una digestión proteica con Proteinasa K (Dako K5201) durante 30 minutos a 37°C, seguido de lavados con agua destilada y etanol 96°. La hidridación se realiza con la sonda EBV (EBER) RNA Probe (Dako Y5200) durante 90 minutos a 55°C. A continuación se realiza un lavado con la solución de astringencia (Dako K5201) durante 25 minutos a 55°C y un segundo lavado con TBS durante 10 minutos. La detección se realiza con el sistema EnVision FLEX (Dako K8000), alternándose lavados con buffer e incubaciones con solución de bloqueo de la peroxidasa endógena durante 5 minutos, incubación con anticuerpo murino anti-FITC durante 25 minutos; incubación con anticuerpo-HRP durante 20 minutos; diaminobencidina durante 10 minutos y Hematoxilina-Eosina durante 5 minutos.

La detección de la proteína de membrana LMP-1 se realiza mediante método inmunohistoquímico. Tras la desparafinación y rehidratación de los cortes igual que en la ISH, se alternan lavados en buffer con incubaciones en solución de bloqueo de la peroxidasa durante 5 minutos, anticuerpo primario frente a LMP-1 (Dako IR753) durante 10 minutos, anticuerpo secundario-HRP durante 20 minutos, DAB durante 10 minutos y contraste con HE durante 5 minutos.

RESULTADOS:

Previamente habíamos seleccionado muestras positivas para EBV. La sensibilidad de la determinación del antígeno de membrana LMP-1 es del 52% y para el diagnóstico mediante detección de fragmentos de RNA del EBV es del 80%. En las patologías que expresan el patrón de Latencia III la sensibilidad del EBER es de 100% mientras que de LMP-1 se mantiene en el 100% para LBDCG y baja al 60% en el caso de la MI. En el caso de infecciones de tipo patrón II, el EBER mantiene una sensibilidad en torno al 60% mientras que la IHQ de LMP-1 oscila entre un 20 y un 50% de sensibilidad.

CONCLUSIONES:

- La técnica de EBER presenta una sensibilidad mayor que la determinación de LMP-1.
- Debido a la menor complejidad técnica y mayor rapidez de resultado, la determinación de LMP-1 puede ser la técnica de primera elección para el diagnóstico de infección por EBV y en caso negativo realizar la determinación de EBER para un resultado confirmatorio.

ESTUDIO DEL REORDENAMIENTO CLONAL DE LAS REGIONES HIPERVARIABLES DE LOS GENES IG Y TCR MEDIANTE AMPLIFICACIÓN GENÓMICA Y ELECTROFORESIS CAPILAR

Autor/a/s: Pumarejo Gómez, Enriqueta; Estébanez Gallo, Ángel; Azpiazu Gómez, María del Carmen; Díaz García, María del Pilar; García Lavín, Rosa María; Cueto de la Riva, María Amelia; Rodríguez Bañuelos, María Isabel; Herrera Cisneros, María Dolores; Bravo Calera, Alba; Echevarría, Silvia; Pereira Gómez, Irian; Montes Moreno, Santiago

Centro de trabajo: Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla"

Localidad: Santander

Correo electrónico del primer firmante: ketypg@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La aplicación de la amplificación de DNA mediante reacción en cade-

na de la polimerasa (PCR) y su estudio mediante electroforesis capilar permite la incorporación de estudios de clonalidad a los laboratorios asistenciales combinando la facilidad de uso, un menor coste de tiempo y la rapidez en la obtención de resultados respecto de otras técnicas. Además, permite el estudio a partir de DNA extraído de tejido parafinado frente a otras técnicas como el Southern que requieren de DNA conservado (fragmentos >1000 pb) y que limitan los estudios a muestras en fresco o congeladas.

El estudio genotípico de las regiones hipervariables de los genes de las cadenas gamma y beta del receptor de la célula T (TCR) y del receptor de la inmunoglobulina (IgH, IgK, IgL) es un método complementario al diagnóstico histopatológico en casos de proceso linfoproliferativo, ayudando en el diagnóstico diferencial entre proceso reactivo y neoplásico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han estudiado un total de 122 muestras de DNA, entre octubre de 2013 y octubre 2014; 105 extraído a partir de tejido fijado y parafinado y 14 de muestras en fresco.

La extracción del DNA se realizó mediante una desparafinación previa de cortes de tejido de 5 ¼m de grosor mediante inmersiones e incubaciones en diferentes pasos de xileno y etanol absoluto. A continuación se realiza la extracción de DNA en distintos pasos mediante buffer de lisis de las estructuras celulares, buffer de unión al DNA, isopropanol, buffer de lavado, y elución del DNA del sistema de columnas.

Se realiza un análisis de la pureza del DNA y se cuantifica mediante espectrofotometría. Para determinar la calidad del DNA (fragmentación) se realiza una PCR de los genes Tbxas, RAG-1, PLZF y AF4 que genera amplicones de 100, 200, 300, 400 y 600 bp.

El estudio genotípico se realiza con los kits IdentiClone IGH Gene Clonality Assay Cat.9-101-0061 (amplificación de las regiones FR1-JH, FR2-JH y FR3-JH del gen de la IgH) y los kit IdentiClone TCRG y TCRB Gene Clonality Assay Cat.9-207-0020 y Cat.9-205-0011 (amplificación de las regiones VgJg-A y VgJg-B del gen TCR-G y regiones VbJb-A, VbJbB y Db-Jb del gen TCR-B), que incluyen los reactivos y cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa. En cada PCR se añade un DNA como control positivo, y un control negativo. El equipo utilizado es el GeneAmp PCR System 9700 de PE Applied Biosystem. La configuración de temperaturas es 95°C/7min (95°C/45seg 60°C/45seg 72°C/90seg)x35 ciclos 72°C/10min 15°C.

La lectura de los fragmentos amplificados se realiza mediante el secuenciador Abi3130XL Genetic Analyzer y el análisis de datos con el software GeneMapper versión 4.1.

RESULTADOS:

En 96 muestras se han estudiado los reordenamientos de los receptores de células T o B (tabla 1). En las 15 muestras restantes se ha analizado el reordenamiento en ambos; en 4 pacientes hay monoclonalidad para los genes IgT y TCR, 1 paciente es monoclonal para la población B y en 5 pacientes para la población T. En dos pacientes el análisis para el reordenamiento en TCR es de oligoclonalidad. En los 3 pacientes restantes el patrón es policlonal para ambos genes.

Tabla 1	Policlonal	Monoclonal	Oligoclonal
IgH	32	33	0
TCR	25	29	7

El análisis de la calidad del DNA según su procedencia (en fresco vs. parafinado) arroja una evidente menor fragmentación en el DNA extraído a partir de muestra en fresco, mientras que en el 10% de las muestras obtenidas a partir de tejido parafinado no ha sido posible obtener un resultado valorable debido a la mala calidad del DNA. Este

problema es más frecuente según menor es la calidad del material extraído.

Tabla 2	400 pb		300 pb		200 pb		100 pb ó <	
	N total	N Validas	N total	N Validas	N total	N Validas	N total	N Validas
Muestra en fresco	13	13	1	1				
Muestra fijada	28	27	50	50	20	16	7	1

CONCLUSIONES:

1.- Más del 50% de las muestras analizadas muestran un perfil claro de monoclonalidad, lo que sugiere la utilidad de los estudios de reordenamiento en infiltrados linfocitarios para confirmar la clonalidad del infiltrado linfóide.

2.- Si bien este método no requiere de un DNA de extraordinaria calidad, es aconsejable que la muestra esté formada por fragmentos a partir de 300 pb. Muestras de DNA con fragmentos entre 100 y 200 pb pueden arrojar resultados no valorables, mientras que en muestras con DNA muy fragmentado es muy poco probable la obtención de un resultado valorable.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 210

EVOLUCIÓN DE LAS DETERMINACIONES DE RAS SEGÚN DISTINTAS METODOLOGÍAS EN EL CAULE

Autor/a/s: Engracia Santín Piedrafita, Cristina Díaz Tascón, Raquel González Martínez, Mercedes Hernando Martín, Concepción Álvarez Cañas, Rosario Turiel Vicente.

Centro de trabajo: HOSPITAL ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE LEÓN (CAULE)

Localidad: LEÓN

Correo electrónico del primer firmante: gspiedrafita@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las terapias con anticuerpos monoclonales frente al receptor de membrana EGFR (cetuximab y panitumumab) han supuesto uno de los mayores avances para el tratamiento actual del cáncer colorrectal metastático. El bloqueo de EGFR con estos fármacos impide la activación de la ruta RAS/MAPK, lo que evita la proliferación de las células tumorales. No obstante, cuando RAS se encuentra mutado, la vía continua activa independientemente del bloqueo de EGFR. La mutación en un gen de la familia RAS hace que estos pacientes no respondan a la terapia anti-EGFR.

Las mutaciones más frecuentes ocurren en el exón 2 del gen KRAS. Pero también pueden aparecer en los exones 3 y 4 de este gen, o en los exones 2, 3 y 4 del gen NRAS. Desde el punto de vista práctico, el análisis del exón 2 del gen KRAS permitirá identificar al 40-60 % de los pacientes que no van a beneficiarse del citado tratamiento, mientras que para el correcto diagnóstico de los demás pacientes, será necesario completar las determinaciones del resto de los exones de KRAS y NRAS.

OBJETIVO:

En este trabajo describimos la evolución de las determinaciones de RAS en nuestro centro, comparando la proporción de mutaciones detectada en función de la tecnología empleada.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Nuestro hospital comenzó a realizar las determinaciones rutinarias de KRAS en el año 2010 mediante el sistema TheraScreen KRAS (Qiagen), que analiza las 7 mutaciones más frecuentes del gen. En julio de 2012 se introdujo el sistema COBAS (Roche), que incorporaba el estudio del codón 61 (exón 3 de KRAS). A principios de 2014 se implementó la determinación completa de los exones 2, 3 y 4 de KRAS y NRAS mediante un sistema basado en pirosecuenciación (Pyromark Q24 Qiagen).

RESULTADOS:

La siguiente tabla muestra el número de casos analizados con cada una de las tecnologías mencionadas, así como la proporción de mutados y nativos observados. Se aprecia un aumento en la proporción de mutaciones detectada a medida que las técnicas incorporan nuevos ensayos. De hecho, de un 45,5% de casos mutados analizando únicamente el exón 2 de KRAS se ha llegado a un 52,4% analizando los exones 2, 3 y 4 de KRAS y NRAS.

	NÚMERO DE CASOS	MUTADOS	NATIVOS
TheraScreen KRAS (Qiagen)	422	171 (40,5%)	251 (59,5%)
COBAS (Roche)	311	159 (51,1%)	152 (48,9%)
Pirosecuenciación (Pyromark Q24 Qiagen).	170	89 (52,4%)	81 (47,6%)

CONCLUSIONES:

La eficiente detección de mutaciones en KRAS y NRAS es esencial para la identificación de los pacientes que pueden beneficiarse de la terapia con anticuerpos que bloquean al receptor EGFR. El desarrollo de ensayos validados para diagnóstico que incorporan todas aquellas mutaciones que limitan la eficacia de estos tratamientos, proporciona herramientas para el correcto manejo clínico de los pacientes.

BIOQUÍMICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 001

ELECTROFORESIS DE HEMOGLOBINAS

Autor/a/s: Couselo Noya, María Jesús; Iglesias Lema, Teresa; Gestal Gómez, Pilar; Barreiro Castro, Belén.

Centro de trabajo: C.H.U A Coruña

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: maria.jesus.couselo.noya@sergas.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La electroforesis de hemoglobinas, es una técnica de separación de hemoglobinas en sangre, que permite separar los distintos tipos en función de su carga eléctrica, en un medio alcalino a Ph 7.4.

Las hemoglobinas fisiológicas presentes en sangre humana son:

- Hb A (96.8-97.8%)
- Hb A2 (2.2-3.2%)
- Hb F (<0.5%)

Aparte la electroforesis permite detectar las posibles Hbs patológicas presentes en sangre (Hb C, Hb S, etc)

OBJETIVOS:

Discriminar las diferentes bandas de Hbs existentes en sangre y diferenciar las normales de las patológicas así como cuantificarlas.

Determinar durante el año 2014 el porcentaje de Hbs anormales detectadas en nuestro hospital y reseñar las más frecuentes.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El equipo de electroforesis capilar que tenemos es el HPLC Capillarys de Sebia y se puede usar tanto sangre anticoagulada con Edta, heparina o citrato. Asimismo las sangre se pueden conservar en nevera hasta siete días y congeladas tres meses como máximo.

RESULTADOS:

De un total de 1301 muestras que se han analizado durante el año 2014 nos hemos encontrado con:

28 Alfa talasemia mutaciones lo que supone un 2.2% y

55 Beta mutaciones con un 4.2%

En Alfa talasemias la más habitual es la 3.7 single gen con un 67.8% y 4.2 single gen 10.7% (Con respecto a las 28 detectadas)

En cuanto a Beta talasemias: Codón 39:29.1%, HbS:20%, ivs1.1:16.4%, ivs 1.110:14.5% (Con respecto a las 55 detectadas)

CONCLUSIONES:

El porcentaje de Hbs patológicas ha aumentado durante estos últimos años sobre todo por el fenómeno de la inmigración, detectándose tipos poco frecuentes en nuestra comunidad. A día de hoy consideramos esta técnica como la más adecuada para detectar la mayoría de ellas, lo que es especialmente importante en casos de Talasemia mayor por su grave clínica y en gente joven por la repercusión que puede tener en su futura descendencia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 007

ESTUDIO SOBRE LA DETERMINACIÓN DE MARCADORES ÓSEOS EN PACIENTES DE MIELOMA MÚLTIPLE CON METÁSTASIS ÓSEAS.

Autor/a/s: Prieto Sainz, Belén; Fuentes Rebollo, Carmen; González Fernández, Ana María; Fernández González, Patricia.

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario

Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: belenprisa@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los siguientes marcadores son utilizados en el seguimiento y detección de metástasis óseas asociadas a procesos cancerosos:

El osteoblasto realiza dos funciones dentro del proceso de formación del hueso: síntesis de proteínas y mineralización de la matriz. Entre las proteínas sintetizadas por él están el colágeno y la osteocalcina, que es una proteína ósea específica dependiente de vitamina K cuya función es la fijación del calcio y es considerada un marcador de la velocidad de recambio óseo.

El marcador de formación ósea aminoterminal de procolágeno I (P1NP) es un péptido sintetizado en el osteoblasto durante la producción de colágeno I.

El telopéptido B-CrossLap es un fragmento de ocho aminoácidos perteneciente a la zona telopéptidica C-terminal de una cadena ± 1 del colágeno I. Es un péptido producto de la degradación del colágeno tipo I y un marcador de resorción.

OBJETIVOS:

Determinación de los marcadores de remodelado óseo en pacientes con mieloma múltiple y el análisis entre su presencia con la de metástasis óseas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Mediante el autoanalizador Cobas-6000 (Roche Diagnostics) se determinaron P1NP, Osteocalcina y B-crosslaps en 51 muestras de pacientes con mieloma múltiple procedentes del servicio de Hematología del Hospital Clínico, mediante técnicas de Enzimoimmunoensayo. Se crearon tres grupos de pacientes, en función de la presencia o ausencia de metástasis óseas analizados mediante gammagrafía ósea con Tecnecio-99m más un grupo control de pacientes sanos.

La comparación de los parámetros de los pacientes con o sin metástasis se ha realizado con la prueba de Kruskal Wallis y la de U de Mann-Whitney (con la corrección de Bonferroni) para los resultados estadísticamente significativos.

RESULTADOS:

Grupo sin metástasis: P1NP 35,14 IC95% (2,61-67,68), Osteocalcina 10,21 IC95% (5,99-14,43) y B-Crosslaps 0,34 IC95% (-0,003-0,69)

Grupo con metástasis: P1NP 70,57 IC95% (-37,11-178,26), Osteocalcina 22,23 IC95% (8,56-35,89) y B-Crosslaps 0,55 IC95% (-0,24-1,34)

Grupo control: P1NP 37,30 IC95% (23,28-51,34), Osteocalcina 18,58 IC95% (12,39-24,77) y B-Crosslap 0,34 IC95% (0,22-0,46).

No existen diferencias estadísticamente significativas para los dos parámetros de estudio CROSSLAP y P1NP entre los grupos, sin embargo, para Osteocalcina sí existen diferencias estadísticamente significativas en aquellos resultados cuyo $p < 0,016$: $P_{valor} = 0,004$.

CONCLUSIONES:

En vista de los resultados obtenidos, P1NP y B-Crosslap no serían útiles en la detección de metástasis óseas ya que no diferencian claramente el grupo que tiene metástasis del que no las tiene. Sin embargo, Osteocalcina es el marcador que aumenta significativamente en pacientes con mieloma múltiple afectados de metástasis óseas respecto al grupo sin metástasis.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 009

COMPARACION DE UN METODO MANUAL Y UN METODO AUTOMATIZADO PARA EL RECuento DE CELULAS BLANCAS EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

Autor/a/s: Tolosa Antolín Azucena, Zapico Belloso Alicia, Callejo del Pozo María Paz, Moreno Mayordomo Raquel

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid

Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: azucen@telecable.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La investigación de células en el líquido cefalorraquídeo (LCR) se utiliza sobre todo para evaluar la enfermedad infecciosa, principalmente la meningitis.

De forma tradicional el conteo de células se ha venido haciendo manualmente, con distintas cámaras de recuento, pero en la actualidad se dispone de sistemas de conteo automatizado.

OBJETIVOS:

Determinar la correlación que existe entre el conteo de células en fresco en la cámara Fuchs-Rosenthal y en el conteo en el Sysmex XE- 5000 ® (Roche Diagnostics) en modo Body Fluid.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recogieron 40 muestras de LCR de pacientes adultos

El método Body Fluid es un método específico de trabajo para el análisis de líquidos biológicos. La tecnología aplicada se basa en la citometría de flujo de fluorescencia. El otro método utilizado es el conteo manual de células en la cámara Fuchs-Rosenthal.

Se realizó por ambos métodos y para su comparación se halló el coeficiente de correlación de Pearson y la regresión de Passing-Basbolk.

RESULTADOS:

Una concentración de células de hasta $10^4/l$ se considera el límite de la normalidad. En este rango se encontraron 24 muestras.

Una concentración superior se considera elevada.

7 muestras presentaron pleocitosis ligera: de 10 a 30 células/ 4l .

5 muestras presentaron pleocitosis moderada: de 30 a 100 células/ 4l .

4 muestras presentaron pleocitosis marcada >100 células/ 4l .

CONCLUSIONES:

A pesar de que los resultados obtenidos mediante Body Fluid fueron ligeramente más elevados, debido a la presencia de residuos en LCR, concluimos que podríamos realizar con confianza recuentos automatizados.

Este método presenta además la ventaja de la rapidez con la que hace el recuento y el análisis diferencial de leucocitos.

Sin embargo dado que las sociedades científicas recomiendan el conteo manual, concluimos que, hasta que se realicen más estudios, lo ideal es confirmar siempre manualmente el recuento obtenido de forma automatizada para evitar el falseo de resultados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 014

VALIDACIÓN DE UN MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE OXALATO Y CITRATO EN ORINA MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR.

Autor/a/s: Díaz González María del Carmen; Montes Jiménez Inés; Ortega Madueño Isabel; Arroyo Fernández Manuel

Centro de trabajo: Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico San Carlos.

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: mcarmendiazgonzalez@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La formación de cálculos renales está relacionada con la excreción de ciertas sales en orina. La hiperoxaluria (concentraciones elevadas de oxalato en orina) y la hipocitraturia (bajas concentraciones de citrato en orina) constituyen los principales factores de riesgo en el desarrollo de cálculos de oxalato cálcico (75% de los cálculos renales). Por tanto la determinación de oxalato y citrato en orina es importante en la evaluación y tratamiento de los pacientes con nefrolitiasis de oxalato cálcico. La mayoría de los métodos que existen actualmente para la cuantificación de estos analitos, se basan en métodos enzimáticos que requieren una preparación complicada de la muestra y que son caros para la rutina hospitalaria.

OBJETIVOS:

El objetivo de este trabajo es validar un método basado en electroforesis capilar para la determinación simultánea de oxalato y citrato en orina de 24 horas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La separación electroforética se llevó a cabo con un capilar neutro (50 μm de diámetro interno) utilizando como medio de separación un tampón fosfato a pH 6.1. El voltaje aplicado fue de 10kV (polaridad reversa) durante 13 minutos. La detección se realiza mediante absorción a 200 nm con un detector UV. Los tiempos de migración electroforética fueron 5.0 minutos para el oxalato y 7.5 minutos para el citrato.

La determinación se realizó en orina de 24 horas. Las muestras se centrifugaron a 30000 rpm durante 30 minutos inyectándose el sobrenadante en el sistema de electroforesis capilar.

RESULTADOS:

El método se ha validado respecto a la linealidad, exactitud, sensibilidad y precisión. El intervalo de linealidad es de 20 a 1750 mg/L para el citrato ($r^2=0.996$) y de 5 a 450 mg/L ($r^2=0.998$) para el oxalato.

La exactitud se evaluó mediante ensayos de recuperación añadiendo a una muestra cantidades conocidas de citrato y oxalato. Los resultados del ensayo de recuperación fueron 100-110% para el oxalato y 95-115 para el citrato.

El límite de detección se determinó como la cantidad mínima de oxalato (5mg/L) y de citrato (20mg/L) detectadas en el electroferograma.

El límite de cuantificación se determinó como la cantidad mínima cuantificable con un coeficiente de variación menor del 10% (10 repeticiones). Para el oxalato se estableció en 6 mg/L (CV%= 7%) y en 25mg/L (CV%= 9%) para el citrato.

Se evaluó la precisión intra-ensayo midiendo 10 repeticiones de una muestra y 2 controles en un mismo día. El coeficiente de variación fue menor del 10% para el oxalato y del 11% para el citrato.

En cuanto a la precisión inter-ensayo se evaluó midiendo dos muestras y dos controles durante 20 días. Para el oxalato el coeficiente de variación fue del 15% y para el citrato el coeficiente de variación fue del 18%.

CONCLUSIONES:

Los resultados de la validación muestran que se trata de un método sensible, con intervalo de linealidad alto y con una precisión y exactitud aceptables. Por tanto este método puede ser utilizado para la determinación simultánea de oxalato y citrato en orina de 24 horas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 015

PROTOCOLO MICROHEMATURIA EN EL ÁREA DE A CORUÑA

Autor/a/s: Seijas Santamariña, María; González Rieiro, Isabel

Centro de trabajo: Hospital Materno Infantil Teresa Herrera

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: maria.seijas.santamarina@sergas.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La microhematuria asintomática tiene una incidencia entre 0.19% y 16.1% de la población general y aumenta con la edad. Las causas van de hallazgos incidentales menores que no requieren tratamiento hasta lesiones significativas que requieren tratamiento inmediato. Su estudio indiscriminado consume recursos, y el rastreo de la población general no es recomendado debido a la baja incidencia de enfermedad urológica. En el Área de Gestión Integrada de A Coruña se elaboró un algoritmo ordenado de evaluación para su diagnóstico.

La microhematuria asintomática en adultos es la presencia de más de 3 hematíes por campo en el sedimento urinario centrifugado, que tiene que ser confirmado en dos muestras más, a lo largo de por lo menos 10 días.

Con la sistemática actual de análisis del sedimento urinario la microhematuria consiste en el hallazgo de más de 15 hematíes en la citometría urinaria, en dos muestras adecuadas de orina.

Después de dos muestras, si procede, se le pide al paciente que recoja orina en el tubo BD Vacutainer UA Preservative Tube.

Objetivo: Confirmar si ha habido un incremento de las peticiones de microhematuria desde que se empezó a realizar en el año 2013 y ver cuantos hallazgos de microhematuria asintomática ha habido desde ese año.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Los Técnicos de Laboratorio del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña hemos analizado los datos de las microhematurias realizadas en el año 2013 y en el año 2014 en el Área de A Coruña, extraídos del Sistema Informático del Laboratorio (SIL).

RESULTADOS:

En el año 2013 ha habido 81 pacientes con petición de microhematuria, 71 no cumplían el protocolo microhematuria y a 10 se les pidió que enviaran orina en el tubo especial de recogida BD Vacutainer UA Preservative Tube; 1 no lo envió, 3 no cumplían el protocolo microhematuria y en 6 se hallaron hematíes isomórficos de probable origen no glomerular.

En el año 2014 ha habido 213 pacientes con petición de microhematuria, 183 no cumplían el protocolo microhematuria y a 30 se les pidió que enviaran orina en el tubo especial de recogida BD Vacutainer UA Preservative Tube; 7 no lo enviaron, 6 no cumplían el protocolo microhematuria y en 17 se hallaron hematíes isomórficos de probable origen no glomerular.

CONCLUSIÓN:

Nuestros resultados muestran que ha habido un notable incremento de peticiones de microhematuria. De las peticiones habidas, sólo en un pequeño porcentaje de pacientes se han encontrado hematíes isomórficos, que informan de un daño de origen no glomerular y no se ha encontrado ninguna microhematuria con dismorfia – acantocitosis, que informaría de un daño de origen glomerular.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 018

CÁNCER COLORRECTAL: POTENCIAL VALOR COMO FACTOR PRONÓSTICO E INCIDENCIA DE MUTACIONES EN VEGFR-2, PDGFR-ALFA Y PDGFR-BETA

Autor/a/s: Meléndez Cadenas, Ricardo José; Martín Peña, María de los Reyes; Blanco Martín, Inés María

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS)

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante:

ricardomelendezcadenas@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los más frecuentes en los países occidentales. En España es la segunda causa de muerte por cáncer en los hombres después del cáncer de pulmón y la segunda en las mujeres después del de mama. Se estima que en nuestro país cada año se diagnostican aproximadamente 26.000 nuevos casos de cáncer de colon y casi la mitad de los pacientes mueren a causa de la enfermedad.

OBJETIVOS:

La angiogénesis desempeña un papel fundamental en el crecimiento y diseminación tumorales, siendo actualmente una de las principales dianas terapéuticas antineoplásicas. Las familias de receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFR) y del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR) son cruciales en este proceso, pero hasta la fecha no se ha evaluado la incidencia de mutaciones en estos receptores ni su potencial valor como factores pronósticos o predictivos en cáncer colorrectal (CCR)

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha explorado la existencia de mutaciones en VEGFR-2, PDGFR- α y PDGFR- β mediante secuenciación de sus dominios tirosina-quinasa en líneas celulares de CCR y muestras tumorales, en las que se incluyen:

- 8 líneas celulares de CCR (T84, LOVO, LS174T, HT29, LS180, SW48, SW480, COLO205). Fueron seleccionadas para representar a pacientes de diferente sexo y edad, con distintos estadios tumorales.
- 92 muestras tumorales parafinadas de pacientes con CCR tratados quirúrgicamente, procedentes de los Servicios de Anatomía patológica de los Centros participantes en el estudio.

Posteriormente se ha analizado su potencial correlación con distintas características clínico-patológicas y con la supervivencia de los pacientes

RESULTADOS:

1. Se han identificado tres variaciones genéticas en PDGFR- \pm y una en PDGFR- 2 con respecto a la secuencia de referencia del tipo nativo (wild type, WT), sin objetivarse mutaciones en VEGFR-2.

Todas las mutaciones identificadas corresponden a cambios en un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphisms; SNP)

	SNP	Cambio alélico
PDGFR- α	11A	A/G
	12A	G/A
	16A	C/A
PDGFR- β	19B	C/T

2. Las líneas celulares de CCR y las muestras tumorales parafinadas mostraron características similares en los SNP identificados.

PDGFR \pm -11A y PDGFR \pm -16^a presentaron la variación alélica en el 100% de las líneas celulares de CCR y de las muestras tumorales; en todos los casos en homocigosis.

PDGFR \pm -12A presentó el SNP en dos líneas celulares en heterocigosis, y el genotipo nativo en el resto. Se identificó en el 14 % de las muestras tumorales.

PDGFR 2 -19B presentó el SNP en cuatro líneas celulares en heterocigosis, y WT en las restantes. Se identificó en el 49% de las muestras tumorales

3. La supervivencia global a los 5 años fue significativamente superior en los pacientes que presentaban tumores PDGFR 2 -19B WT que en aquellos que expresaban SNP 19B.

CONCLUSIÓN:

PDGFR 2 SNP 19B se asocia con una menor supervivencia y podría ser un marcador útil como factor pronóstico en pacientes con Cáncer Colorrectal, aunque se requieren futuros estudios que validen nuestros datos.

damentan en pruebas de diagnóstico, siendo las relacionadas con el laboratorio clínico las de mayor peso.

Una de las actividades postanalíticas fundamentales en el laboratorio clínico es la detección y la comunicación inmediata de los resultados analíticos que identifican a los pacientes en condiciones críticas.

Con este tipo de valores debe existir un COMPROMISO de comunicar en forma personalizada los resultados a fin asegurarse que el médico conozca esta información y permitir un actuación precoz que pueda evitar consecuencias.

las pruebas deberían ser notificados directamente al médico responsable del paciente o a un sustituto autorizado del médico ordenante si esto no generara un retraso significativo en tratar rápidamente al paciente.

OBJETIVOS:

El objetivo principal es la incorporación en nuestro laboratorio del software HP-HCIS y la herramienta Mapa de Urgencias para:

Dotar de un plus de calidad y continuidad analítica al laboratorio de urgencias.

Poder ofrecer una mayor continuidad asistencial del paciente.

Que el laboratorio de urgencias forme parte del equipo y engranaje que se ha creado entorno a esta aplicación de manera activa y si es posible aportar y ayudar a su desarrollo.

Disponer de toda la información relacionada a todos los pacientes que se encuentran en el área de urgencias en tiempo real con la mayor brevedad posible y utilizando el mínimo de recursos, poder conocer las pruebas técnicas solicitadas, tiempos de estancia en la urgencias, niveles de triaje, datos personales, motivo de consulta, médico asignado, zona donde se encuentra o estado de atención y ubicación exacta real en todo momento.

Actuar en posibles incidencias preanalíticas, anticipándonos y evitando tiempos preanalíticos alargados.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio descriptivo donde las variables que se han utilizado es la experiencia de los diferentes profesionales sanitarios con la aplicación HP-HCIS desde su instauración en el del Hospital de Alta Resolución de Benalmádena.

Se ha observado el manejo de dicha aplicación según privilegios de diferentes usuarios y perfiles correspondientes, valorando los beneficios que ésta puede aportar al laboratorio de urgencias.

Se realizan diversas entrevistas y cuestionarios del funcionamiento de la aplicación de HP-HCIS en la cadena de urgencias a diferentes usuarios y pacientes.

Prevía información de en qué consiste y el funcionamiento de ésta, por último se le realiza a todo el personal técnico del laboratorio un cuestionario sobre la valoración de la incorporación de dicha aplicación.

RESULTADOS / PUESTA EN MARCHA:

Tras un año de rodaje de la herramienta localizador del programa HP-HCIS, se realizan una serie de encuestas a los diferentes profesionales del Hospital de Alta Resolución de Benalmádena y usuarios del mismo (paciente y familiares), para poder analizar la opinión y experiencia con el localizador.

La encuesta dirigida a los profesionales se dividen por categorías sobre un total de 40 personas, de los cuales: 32% Enfermeros, 17% Auxiliares de enfermería, 15% Técnicos de Rayos, 13% Celadores, 8% administrativos y 3% Técnicos de Laboratorio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 019

COMO DAR UN SALTO CALIDAD Y CONTINUIDAD ANALÍTICA AL LABORATORIO DE URGENCIAS APROVECHÁNDONOS DE UNA HERRAMIENTA BÁSICA DEL SOFTWARE HP-HCIS

Autor/a/s: MADRID ROSADO SALVADOR; RUIZ PALMA VANESA.

Centro de trabajo: HOSPITAL DE ALTA RESOLUCIÓN DE BENALMÁDENA

Localidad: MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: MADRIDSAL@HOTMAIL.COM

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La importancia del laboratorio clínico en la práctica médica es vital, ya que el 70% de los procedimientos y tratamientos médicos se fun-

A la pregunta: ¿Facilita esta herramienta su trabajo? 97% contesto Sí. ¿Piensa que el uso de la aplicación aumenta la calidad o la seguridad asistencial del paciente? el 100% contesto Sí.

Se realiza una encuesta a una total de 30 usuarios de los cuales 20 son pacientes y 10 son familiares o acompañantes. A la pregunta: ¿Perciben una continuidad de información asistencial en todo momento? el 77% responden Sí, el 13% NO y 10% no sabe no contesta.

En la actualidad se realizó una encuesta al 100% de los técnicos de laboratorio del Hospital de Alta Resolución de Benalmádena, tras una breve explicación del manejo de dicho Software, y a la pregunta: ¿facilitaría esta aplicación su trabajo? el 100% respondió Sí. ¿Crees que con el localizador aportaríamos calidad y fiabilidad al laboratorio de urgencias? el 100% contesto Sí.

CONCLUSIONES:

Tras valorar los resultados obtenidos de la experiencia en el uso y manejo de la herramienta del localizador HP-HCIS, podemos concluir que:

Es una herramienta que aumenta la calidad y la seguridad asistencial del paciente.

Facilita el trabajo de todos los usuarios que lo utilizan.

Con la incorporación de esta herramienta a nuestra dinámica de trabajo daríamos un salto importante a nivel de fiabilidad, compromiso de comunicación directa, detección de errores preanalíticos, reducción de tiempo de espera del paciente, continuidad analítica y mejoraríamos notablemente la validación fisiopatológica parte fundamental del trabajo del técnico de urgencias.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 020

ESTANDARIZACIÓN DEL SEDIMENTO URINARIO

Autor/a/s: Sofía García Pino / Eloísa González Gómez

Centro de trabajo: Hospital Costa del Sol

Localidad: Marbella

Correo electrónico del primer firmante: sogarpi@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La realización del sedimento urinario es quizás la prueba con mayor variabilidad de las que se realizan en el laboratorio, por lo que es necesario establecer un procedimiento que estandarice su realización, sobre todo en laboratorios de urgencias en donde un elevado número de personas pueden intervenir en el seguimiento de un mismo paciente.

OBJETIVOS:

El objetivo del estudio es mostrar la propuesta de estandarización del sedimento urinario en el laboratorio de urgencias de la ASCS.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La propuesta de estandarización incluye los siguientes aspectos:

- El volumen de partida no es tan importante como asegurarse del factor de concentración que obtenemos tras la centrifugación y posterior decantación del sobrenadante (se recomienda factor de concentración 1/10)

- El tiempo de centrifugado no debe superar 3 - 5 minutos. Se recomienda que la fuerza centrífuga relativa (FCR) sea de 450g, lo que equivale a una velocidad de centrifugado en torno a 1500 r.p.m. (Utilizar más velocidad o mayor tiempo de centrifugado conduce a la pérdida y deterioro de elementos formes)
- El decantado por inversión del tubo puede conducir a pérdidas de parte del sedimento por lo que se recomienda extraer el sobrenadante por vacío o aspirado con pipetas de un solo uso, u otros dispositivos
- La resuspensión del sedimento se debe realizar siempre suavemente, evitando agitaciones fuertes. Podemos ayudarnos de una pipeta, o con suaves golpes de los dedos o con un agitador, pero a baja velocidad
- Utilización cámara de recuento: suelen ser dispositivos que admiten hasta diez sedimentos en compartimentos aislados de una altura fija, que se llenan por capilaridad y dotados de sistema de rebosamiento, de tal manera que el volumen en todos los compartimentos es siempre el mismo.
- Examinar la preparación a 10x da una idea general de las estructuras presentes y se cuentan aquellos elementos más escasos como son los cilindros y las células de epitelio tubular renal y a 40x se cuentan leucocitos, eritrocitos, cristales y células epiteliales si es preciso. Está admitido en general, que un recuento en 10 campos a 40x es suficiente y representativo de todo el sedimento
- Expresión de los resultados: siempre que sea posible, es preferible expresar los recuentos como promedio, aunque está más extendido el informe por campo microscópico. En nuestro caso se utilizan rangos de informe uniformes.

Se han estudiado en paralelo aproximadamente 40 muestras de orina recibidas en el laboratorio de urgencias, a las que se ha aplicado esta propuesta de estandarización (método 1) y el método utilizado hasta ahora (método 2). Los recuentos se han expresado como media para poder comparar ambos resultados.

	Método 1			Método 2			t Student
	N	Media	Desviación estándar	N	Media	Desviación estándar	
Hematies	40	73,9	118	40	74,9	124,6	0,97
Leucocitos	33	28,5	60	33	29,1	41,6	0,96

CONCLUSIONES:

En el estudio preliminar realizado no se han encontrado diferencias estadísticas entre ambos métodos para el recuento de hematíes y leucocitos, no obstante hay que tener en cuenta que el número de muestras analizadas ha sido pequeño. Sería necesario aumentar el número de muestras analizadas, y además aumentar el número de muestras patológicas. Es posible que en el método estandarizado, al realizar el recuento en una cámara en donde el volumen de muestra es mayor, y por tanto la profundidad del campo también es mayor, esto hace que aumente el recuento de células compensando el efecto de la estandarización en el factor de concentración. No obstante, a pesar de no encontrar diferencias en la comparación realizada, disponer de un procedimiento estandarizado mejorará el seguimiento en un mismo paciente.

JORNADAS DE FORMACIÓN EN TÉCNICAS DE NANOBIOMEDICINA

Autor/a/s: COLMENERO MARTOS, ANA MARÍA; ALGAR ROMERO, ANA ISABEL; OCAÑA LÓPEZ, MILAGROS, VALDIVIESO ROLDÁN, FRANCISCO EMILIANO y OCAÑA OCAÑA, MERCEDES.

Centro de trabajo: HOSPITAL MÉDICO-QUIRÚRGICO

Localidad: JAÉN

Correo electrónico del primer firmante: ana4761@andaluciajunta.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El desarrollo de la Nanobiomedicina no sería posible sin la caracterización a través de técnicas de identificación de materiales, tales como la microscopia electrónica de barrido, de transmisión o de fuerza atómica. Se impartieron jornadas para que los Técnicos de Laboratorio conocieran las técnicas más utilizadas en Nanobiomedicina, y facilitar su implantación en el laboratorio.

OBJETIVOS:

Dar a conocer las técnicas más comunes de caracterización de materiales, nanomateriales y catalizadores con la realización de sesiones científico-técnicas sobre Nanobiomedicina dirigidas a los Técnicos de Laboratorio de la Unidad de Bioquímica del Complejo Hospitalario de Jaén, y evaluación de aprovechamiento, en Noviembre de 2014.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han realizado cuatro sesiones, de dos horas de duración cada una, para la información y formación de quince Técnicos de Laboratorio utilizadas en Nanobiomedicina, sobre dieciséis técnicas de identificación de materiales, recogiendo su acrónimo en inglés, así como la información obtenida con cada técnica y sus principios de funcionamiento: Fisisorción de gases, Quimisorción de gases, Desorción a Temperatura Programada, Reducción a Temperatura Programada, Oxidación a Temperatura Programada, Difracción de Rayos X, Termogravimetría, Análisis Térmico Diferencial, Resonancia Paramagnética Electrónica, Análisis Térmico Diferencial de Barrido, Resonancia Magnética Nuclear, Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier, Espectroscopia Raman, Microscopia Electrónica de Transmisión y Microscopia de Fuerza Atómica.

Resultados:

Los asistentes a las Jornadas sobre Nanobiomedicina fueron evaluados en la última sesión, mediante un test sobre los siguientes ítems, obteniendo los siguientes resultados:

- 1.- Reconocimiento de acrónimos normalizados sobre las técnicas utilizadas: 10/15
- 2.- Selección de la técnica más adecuada a la patología a analizar: 12/15
- 3.- Diferenciación del principio básico de cada técnica desarrollada: 14/15
- 4.- Identificación de la instrumentación correspondiente a cada técnica: 13/15
- 5.- Implantación de estas técnicas en el laboratorio será efectiva: 15/15

CONCLUSIONES:

Existen múltiples técnicas para trabajar en la caracterización de nanomateriales y catalizadores, que se están incorporando, poco a poco, a los laboratorios de los centros sanitarios. Los Técnicos de Labora-

torio han recibido con mucho interés y satisfacción la información y formación sobre las técnicas de Nanobiomedicina recibidas, que son muy necesarias para mantener una formación continuada en materias innovadoras, cuya implantación se prevé en un futuro próximo.

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PAPEL PREDICTIVO Y/O PRONÓSTICO DE LAS MUTACIONES DE VEGFR Y PDGFR Y SU INCIDENCIA EN CÁNCER NO MICROCÍTICO DE PULMÓN

Autor/a/s: Meléndez Cadenas, Ricardo José; Blanco Martín, Inés María ; Martín Peña, María de los Reyes

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS)

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: ricardomelendezcadenas@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Alrededor del 85% al 90% de los cánceres de pulmón son no microcíticos (CNMP). Hay tres subtipos principales de este cáncer. Las células de estos subtipos difieren en tamaño, forma y composición química cuando son observadas con un microscopio. Sin embargo, son agrupados en conjunto porque el método de tratamiento y el pronóstico son a menudo muy similares.

Carcinoma de células escamosas (epidermoide): aproximadamente un 25% a 30% de todos los cánceres de pulmón son carcinomas de células escamosas. Estos cánceres comienzan en las versiones tempranas de las células escamosas, las cuales son células planas que cubren el interior de las vías respiratorias en los pulmones. A menudo están asociados con antecedentes de fumar y tienden a estar localizados en el centro de los pulmones, cerca de un bronquio.

Adenocarcinoma: alrededor del 40% de los cánceres de pulmón son adenocarcinomas. Estos cánceres comienzan en las versiones tempranas de las células que normalmente segregarían sustancias, como moco. Este tipo de cáncer de pulmón ocurre principalmente en personas que fuman o que han fumado, pero también es el tipo más común de cáncer de pulmón observado en las personas que no fuman. Este cáncer es más común en las mujeres que en los hombres. En comparación con otros tipos de cáncer de pulmón, es más probable que ocurra en personas jóvenes.

Carcinoma (indiferenciado) de células grandes: este tipo representa aproximadamente del 10% al 15% de los cánceres de pulmón. El cáncer puede aparecer en cualquier parte del pulmón, y tiende a crecer y a propagarse rápidamente, lo que puede hacer más difícil tratarlo.

Otros subtipos: también existen algunos otros subtipos de cáncer de pulmón no microcítico, como el carcinoma adenoescamoso y el carcinoma sarcomatoide. Éstos son mucho menos comunes.

La angiogénesis, que consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los vasos existentes, es una de las vías con más interés terapéutico en CNMP, y en la que no se ha evaluado si existen mutaciones en alguna de las vías implicadas con valor pronóstico.

OBJETIVOS:

1. Identificar mutaciones en los genes que codifican VEGFR-2 y PDGFR- α y β y determinar su incidencia en tumores de pacientes afectados de CNMP.

2. Analizar la correlación entre las mutaciones y diferentes variables clínicas y supervivencia global (SG) para establecer su valor pronóstico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se seleccionaron muestras tumorales de pacientes con CNMP del Hospital Doce de Octubre, Madrid.

Se procedió a la extracción del ADN y se diseñaron cebadores específicos para amplificar los 10 exones que componen el dominio tirosina-quinasa de los tres genes estudiados: VEGFR-2 y PDGFR- α y β .

Una vez obtenidos los fragmentos de ADN se determinó su composición nucleotídica mediante secuenciación directa.

Para la recogida de datos se estimó un tamaño muestral de 80 pacientes. Se establecieron las variables principales: dependientes (SLP y SG) e independientes (mutaciones de VEGFR-2 y PDGFR- α y β) y las covariables (datos demográficos, datos relevantes del tumor y del abordaje clínico). Una vez establecida la incidencia de mutaciones y recogidos los datos clínicos se correlacionó las variables independientes con las dependientes y las covariables.

El análisis estadístico se hizo con el programa SPSS 10.0 en entorno Windows®.

RESULTADOS:

- Se identificaron cuatro variantes genéticas de los genes PDGFR- α y β y ninguna en el gen VEGFR-2. Las alteraciones identificadas correspondían a SNP (single nucleotide polymorphism).
- Las mutaciones en exón 12 y 13 de PDGFR- α (SNP 12A y SNP 13A) y en el exón 19 de PDGFR- β (SNP 19B) no producían cambio en el aminoácido. SNP 17A se encontró en una región intrónica.
- Covariables: Edad media al diagnóstico 68 años. Varones 96.5% y la mayoría fumadores o ex fumadores. El 79% tenía un estadio precoz. El 60% eran epidermoides y el 25% adenocarcinomas.
- SNP 13A y 17A se encontraron en todas las muestras tumorales. SNP 12A se encontró en 18.6% de las muestras y SNP 19B en el 36%.
- No se encontró ninguna correlación entre la aparición de estos polimorfismos y el sexo, hábito tabaquico, estadio o histología.
- Globalmente tampoco se observaron diferencias en la supervivencia global en función de la presencia de los polimorfismos.

CONCLUSIÓN:

1. Las diversas estrategias antiangiogénicas están dando sus frutos en la clínica. No se han identificado biomarcadores implicados en la angiogénesis con valor pronóstico y/o predictivo de respuesta.
2. Hemos analizado la existencia de mutaciones en VEGFR-2 y PDGFR- α y β , algunas de las vías más importantes implicadas en la angiogénesis, en CNMP2 y no hemos detectado ninguna que parezca tener valor pronóstico per se.
3. No se ha analizado su utilidad como predictores de respuesta, lo que podría ser un interesante campo de investigación.

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La calprotectina fecal es una proteína asociada a calcio y zinc, representa un 60% de las proteínas del citosol de los granulocitos neutrófilos. Tiene propiedades bacteriostáticas y fungistáticas; encontrándose incrementados sus niveles hasta 6 veces en heces con respecto a los niveles plasmáticos.

En la inflamación intestinal, la función de la barrera intestinal se pierde y los granulocitos neutrófilos pasan a la luz intestinal, lo que conlleva un aumento de la concentración de calprotectina en heces. La calprotectina fecal es una proteína muy estable y resistente a la degradación proteolítica de las heces. Se establece así una relación directa entre la presencia de neutrófilos en la luz intestinal y el aumento de calprotectina en heces.

La concentración de calprotectina fecal es específicamente elevada en enfermedades inflamatorias intestinales, como la Enfermedad de Crohn y la Colitis Ulcerosa. Esta relación hace que sea un marcador muy específico y sensible, que indica la presencia de inflamación intestinal. La medición de calprotectina fecal es útil como prueba de cribado en referencia a problemas gastrointestinales, así como en el seguimiento de las enfermedades inflamatorias intestinales y en la previsión de recaídas (pacientes asintomáticos, con calprotectina fecal mayor de 250 mg/kg se prevén recaídas próximas).

OBJETIVOS:

Confirmar el incremento de las peticiones de calprotectina fecal desde su implantación en el año 2013, así como el uso de esta técnica de laboratorio frente a otras técnicas más invasivas.

Material y método: Los Técnicos de Laboratorio del Complejo Hospitalario Universitario A Coruña hemos analizado, muestras de heces para determinar los valores de calprotectina fecal con el analizador Phadia 100 y los datos obtenidos de las peticiones de calprotectina fecal, realizadas durante los años 2013 y 2014 en el área de A Coruña.

RESULTADOS:

En el año 2013 hemos recibido 120 solicitudes de calprotectina fecal; 18 han sido rechazadas por ser una petición restringida a Pediatría y Digestivo; 16 no enviaron la muestra; 51 tenían valores aumentados y 35 valores normales.

En el año 2014 hemos recibido 667 solicitudes de calprotectina fecal; 40 fueron rechazadas; 73 no enviaron la muestra; 407 tenían valores aumentados y 147 valores normales.

CONCLUSIÓN:

Los resultados muestran un gran aumento de peticiones de calprotectina fecal. Debido a la implantación de la técnica en la rutina de nuestro Laboratorio y a la introducción de la calprotectina fecal en los Protocolos de Diagnóstico y Seguimiento de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal, por parte de los Especialistas en Digestivo y Pediatría, se ha reducido el uso de otras técnicas más invasivas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 029

CALPROTECTINA FECAL COMO MARCADOR DE ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Autor/a/s: González Rieiro, Isabel; Seijas Santamariña, María

Centro de trabajo: Hospital Materno Infantil Teresa Herrera

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: isisrie@hotmail.es

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 031

CARCINOMA PAPILAR EN EL SENO DE UN QUISTE TIROGLOSO

Autor/a/s: LUISA MARIA RUEDA DURAN, MARIA ANGELES MARTIN GARCIA, MIGUEL ANGEL RUIZ GINES, ROSALIA HONRUBIA HERRERA, JOAQUIN BLANCO GARCIA, DOLORES BENITEZ SEGURA, RAQUEL TELLO SANCHEZ.

Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Salud

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La glándula tiroides se presenta en el embrión como una pequeña porción endodérmica situada en el suelo de la faringe, entre el primer y segundo arco branquial. Su descenso comienza, aproximadamente, en la séptima semana de desarrollo embrionario, en forma de un tubérculo bilobulado, comunicado con el suelo de la boca a través del conducto tirogloso, que desaparece hacia la décima semana embrionaria. El quiste de conducto tirogloso, situado en estrecha relación con el hueso hioides, está causado por la persistencia de dicho conducto o tracto tirogloso.

El quiste del conducto tirogloso (QCT) es la anomalía congénita cervical más frecuente del tiroides, con localización en la línea media, presente hasta en el 7% de la población general y de predominio femenino. Se ha objetivado la existencia de restos de tejido tiroideo entre el 1-40% de los casos. Su origen se debe a la persistencia tras el proceso embriogénico. Aunque en la mayoría de las ocasiones se trata de una enfermedad benigna, en menos del 1% de los casos se pueden producir cambios neoplásicos, siendo, principalmente, el periodo de mayor incidencia la 4-5 década de vida. En el 78-85% de las ocasiones, el carcinoma es de tipo papilar, seguido por el de células escamosas (5%). La mayoría de estos tumores se desarrollarían de novo dentro del quiste, pero, sin olvidar, que hay autores que defienden la teoría de la vía de extensión del cáncer tiroideo.

OBJETIVOS:

Nuestra comunicación tiene como propósito el describir uno de estos infrecuentes casos de carcinoma papilar en el seno de QCT, destacando la importancia del Laboratorio en su diagnóstico, manejo y tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Revisamos el caso de una mujer de 70 años de edad, estudiada en relación a tumoración cervical submentoniana, localizado en línea media, de 4 cm de diámetro, de curso subagudo, asintomático, de consistencia aumentada, no desplazable y adherido a planos profundos. Sin adenopatías palpables.

Ecografía del tiroides: Ambos lóbulos tiroideos con alteración difusa de su estructura con imágenes nodulares en su interior < 1 cm. Imagen submandibular, en línea media, heterogénea con calcificaciones en su interior de 36x18mm.

TAC cervical: A nivel hioideo e infrahioideo, se observa una lesión redondeada, de 3,6 cm de diámetro, que impresiona de quiste tirogloso con calcificaciones y extensión a planos profundos.

PAAF: Citología positiva para células malignas. Constituido por grupos papilares con hendiduras y pseudoinclusiones. Compatible con carcinoma papilar.

Analizador y reactivos: Los parámetros analíticos se determinaron en los analizadores Architect®i2000sr de Abbott® Diagnostics (inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas-CMIA) y Elecsys® E-170 de Roche® (inmunoensayo de electroquimioluminiscencia), empleando los reactivos correspondientes de ambas casas comerciales.

Centrifuga y tratamiento de la muestra: Thermo® Scientific (programación a 3500 rpm, 10 min a 25°C). Análisis realizado en un tiempo inferior a 8 h (conservación hasta 8 h a 25°C)

Muestra: Suero. La muestra de sangre recogida en tubo de plástico de 10 ml siliconado tipo BD Vacutainer®.

Resultados: Se realiza extirpación del quiste más tiroidectomía total, estructuras musculares adheridas, cuerpo hioideo, tiroidectomía to-

tal, linfadenectomía. Reimplante de paratiroides superior izquierda en esternocleidomastoideo izquierdo.

En el estudio de la pieza quirúrgica se observa tumoración encapsulada, compuesta por múltiples formaciones papilares, revestidas de epitelio con núcleos irregulares, con hendiduras y pseudoinclusiones. Se observan microcalcificaciones y folículos con coloide. Juicio diagnóstico: Carcinoma papilar de tiroides, originado sobre quiste de conducto tirogloso con invasión de la cápsula e invasión microscópica focal de los tejidos blandos adyacentes. Ausencia de malignidad en los cortes realizados en los lóbulos tiroideos (hiperplasia nodular difusa y tiroiditis linfocitaria). Se cumplen los criterios de diagnóstico de carcinoma papilar primario de QCT. Resultados analíticos: TSH 2,434 μ U/mL (0,5-4,0), T4L 1,040 ng/dL (0,8-2,0), T3L 2,390 pg/mL (1,7-4,0), Ac. IgG antitiroglobulina (ATG) 8,9 UI/mL (0,00-4,11), Ac. IgG antiperoxidasa (TPO) 34,5 UI/mL (0,00-5,61), Tiroglobulina 118,0 ng/mL (1,4-78,00), Calcio 9,1 mg/dL (8,4-10,2) y Fósforo 3,5 mg/dL (2,7-4,5). Estudio genético de mutación BRAF: negativo.

CONCLUSIÓN:

Hasta Mayo de 2013, se han informado 274 casos de carcinoma de quiste tirogloso desde el año 1915, con una incidencia menor de 1 % en todos los grupos de edad, correspondiendo entre el 80-90 % a carcinoma papilar o bien de tipo mixto (papilar-folicular), siendo en un 10% de tipo escamoso. La evaluación del paciente con carcinoma del QCT debe incluir los estudios necesarios que permitan confirmar el diagnóstico y la localización (origen primario o metástasis secundaria a carcinoma de la glándula tiroides), punción-aspiración con aguja fina (PAAF) de la masa más ecografía y determinación de tiroglobulina (TG).

La TG sérica nos proporciona información sobre la presencia o ausencia de tejido tiroideo. Su aplicación clínica principal es la de ser un marcador tumoral en pacientes con carcinoma de tiroides diferenciado tras extirpación quirúrgica (tiroidectomía). Sin embargo, el valor de la TG en pacientes no tiroidectomizados permanece cuestionada, ya que dificulta el examen isotópico, tratamientos ablativos con I131 y el seguimiento. Algunos autores, se apoyan en estudios que sugieren, que hasta un 11-33% de los pacientes tienen carcinomas dentro del QCT, por lo que abogan por el carácter metastásico de la enfermedad, defendiendo la exéresis del quiste junto a tiroidectomía total obligada. Otros consideran que la intervención quirúrgica es suficiente y curativa. Por todo ello, consideramos, que la forma más adecuada de actuación sería realizar una tiroidectomía total más quistectomía, en lugar de quistectomía aislada. Esta pauta de actuación sería la más aconsejable para evitar sorpresas evolutivas desagradables, debido a tratamientos conservadores y, nos permitiría un mejor control de la enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 032

ÁCIDOSIS LÁCTICA SECUNDARIA A INTOXICACIÓN POR METFORMINA

Autor/a/s: LUISA MARIA RUEDA DURAN, MARIA ANGELES MARTIN GARCIA, ROSALIA HONRUBIA HERRERA, JOAQUIN BLANCO GARCIA, DOLORES BENITEZ SEGURA, RAQUEL TELLO SANCHEZ.

Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Salud

Localidad: TOLEDO

Correo electrónico del primer firmante: lmrueda@sescam.jccm.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La Metformina (MET) es una biguanida con actividad hipoglucemiante utilizada como tratamiento de primera línea en la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM tipo 2). La intoxicación por acidosis láctica (AL), asociada a su uso, es una complicación, extraordinariamente poco frecuente (8 casos/100.000 habitantes/año), pero con una altísima mortalidad (20-50%). La acidosis láctica se produce por la acumulación de Metformina en pacientes con ciertas condiciones predisponentes, siendo el fracaso renal agudo (FRA), la situación más frecuente.

OBJETIVOS:

Nuestro objetivo es presentar un caso severo de acidosis láctica secundario a intoxicación por Metformina en un paciente con Diabetes Mellitus tipo 2, que ingresó en el Servicio de Urgencias de nuestro Hospital por cuadro diarreico intenso asociado con dolor abdominal e intolerancia digestiva total y que desencadenó cuadro de fracaso renal agudo. Además de destacar la importancia primordial del Laboratorio Clínico en el diagnóstico precoz y monitorización de cuadros clínicos, de extrema gravedad, en estos pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Exponemos el caso de un varón de 85 años de edad, que acude al Servicio de Urgencias por cuadro de más de 48 horas de evolución de náuseas, vómitos, diarrea intensa sin productos patológicos, dolor abdominal, intolerancia digestiva total, sudoración profusa, anuria y datos de hipoperfusión (hipotensión [60/40mmHg], taquicardia, taquipnea y estupor. Entre sus antecedentes personales destaca el diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 2 de larga evolución tratada con Vildagliptina/Metformina e hipertensión arterial (HTA) en tratamiento. Presentó dos ingresos por neumonía adquirida en la comunidad (NAC). Con estos antecedentes, se consideró un estado de shock hemodinámico cuya etiología tenía que ser discernida para instaurar el tratamiento adecuado. El paciente presenta un fracaso renal agudo con filtrado glomerular estimado-CKD-EPI de 30 mL/min/1,73m², y deterioro severo de la función renal (creatinina 8,02 mg/dL), con acidosis metabólica secundaria a acidosis láctica, cuyo origen podría ser farmacológico vs infeccioso (sobreinfección por *Clostridium difficile*).

Analizador y reactivos: Los parámetros analíticos se determinaron en el analizador Vitros® 5600 (tecnología MicroSlide, MicroTip, MicroWell, Intellicheck y / MicroSensor) y el analizador de gases en sangre Gem® Premier 3000 de IL Instrumentation-Werfen Company, empleando los reactivos correspondientes de ambas casas comerciales.

Centrífuga y tratamiento de la muestra: Kubota® 8420 (programación a 3500 rpm, 10 min a 25°C). Análisis realizado en un tiempo inferior a 8 h (conservación hasta 8 h a 25°C)

Muestra: Suero y sangre total. La muestra de sangre recogida en tubo de plástico de 10 ml siliconado tipo BD Vacutainer® y en jeringa BD Preset® con heparina de litio balanceada 3 ml.

Resultados: Datos más relevantes al ingreso: Bioquímica en sangre: Glucosa 158 mg/dL (60-100), Urea 183 mg/dL (10-71), Creatinina 8,0 mg/dL (0,5-1,2), Sodio 140,4 mEq/L (132-146), Potasio 5,03 mEq/L (3,7-5,4), Cloro 92,1 mEq/L (94-110), Calcio iónico en suero 3,3 mg/dL (4,6-5,4), Fósforo > 13 mg/dL (2,7-4,5), Magnesio 2,18 mg/dL (1,9-2,5), GPT 72 mU/mL (5-40), GOT 78 mU/mL (5-37), Bilirrubina total 0,2 mg/dL (0-1), LDH 319 mU/mL (230-530), Amilasa 157 mU/mL (30-110), Lipasa 174 mU/mL (23-300), CK 1390 mU/mL (37-290), Proteína C reactiva (PCR) >90 mg/L (0-8), Procalcitonina 5,42 ng/mL (< 0,5 bajo riesgo de sepsis severa y/o shock séptico, > 2 ng/mL riesgo elevado de sepsis severa y/o shock séptico). Gasometría arterial: pH 6,99 (7,35-7,45), pCO₂ 18 mmHg (35-48), pO₂ 268 mmHg

(83-108), HCO₃ 4,3 mmol/L (22-26), BE(b) -25,1 mmol/L (-2-3), SO₂c 100% (95-98), Lactato > 135 mg/dL (5-20).

Evolución clínica y analítica: El paciente ingresa en UCI por inestabilidad hemodinámica. El fracaso renal recomendó el empleo de técnicas de reemplazo renal (hemodiafiltración venovenosa continua). Su situación clínica mejoró rápidamente, normalizándose progresivamente la función renal y las alteraciones hidroelectrolíticas: Glucosa 130 mg/dL, Urea 65 mg/dL, Creatinina 2,02 mg/dL, Sodio 138,3 mEq/L, Potasio 3,35 mEq/L, Calcio iónico en suero 3,5 mg/dL, Fósforo 3,9 mg/dL, PCR 84 mg/L, Procalcitonina 3,17 ng/mL. Gasometría arterial: pH 7,50, pCO₂ 38 mmHg, pO₂ 93 mmHg, HCO₃ 29,6 mmol/L, Lactato 8 mg/dL. Finalmente, la acidosis láctica revirtió. Analítica tras resolución del cuadro clínico: Glucosa 126 mg/dL, Urea 46 mg/dL, Creatinina 1,66 mg/dL, Sodio 135,5 mEq/L, Potasio 4,37 mEq/L, Calcio iónico en suero 4,04 mg/dL, Fósforo 3,0 mg/dL, PCR 14,8 mg/L, Procalcitonina 0,4 ng/mL. Gasometría venosa: pH 7,38, pCO₂ 50 mmHg, pO₂ 45 mmHg, HCO₃ 27,4 mmol/L, Lactato 6 mg/dL. Estudio microbiológico (hemocultivos, urocultivo, heces, gérmenes multirresistentes y *Clostridium difficile* por ELISA): Negativo.

CONCLUSIÓN:

La Metformina, es la única biguanida, utilizada en la actualidad. Su principal efecto de actuación es potenciar el efecto de la insulina. Los efectos secundarios más frecuentes son los de tipo gastrointestinal (náuseas, vómitos, diarreas, dolor abdominal), pero su efecto secundario más grave, aunque muy infrecuente, es la acidosis láctica, complicación extremadamente rara y totalmente evitable. Cuando ocurre, suele ser debido a factores predisponentes, que, a su vez, son contraindicaciones absolutas para su uso (22-52% de pacientes tratados con Metformina presentan al menos una contraindicación), destacando las insuficiencias de tipo renal, hepática y cardíaca, enfermedad coronaria, enfermedades e infecciones agudas graves, inestabilidad hemodinámica (shock, sepsis), cirugía mayor, edad > 80 años, abuso de alcohol, entre otras. En nuestro paciente, la indicación del tratamiento con Metformina no era incorrecta, pero el tratamiento con diuréticos, antihipertensivos, añadido a vómitos y severa diarrea, desencadenó un fallo renal y fracaso multiorgánico (hemodinámico, neurológico y renal), en relación a acidosis láctica. El papel del laboratorio es clave a la hora de detectar, tanto los posibles factores desencadenantes, como para orientar en la etiología de la acidosis, paso necesario para un correcto tratamiento. Los antecedentes del paciente, junto con los resultados analíticos fueron sugestivos de intoxicación (Vildagliptina/Metformina). La confirmación del diagnóstico se obtuvo con la cuantificación de Metformina en suero (ELISA): 30,78 µg/mL (Toxicidad >5 µg/mL), siendo la concentración al alta de 1,24 µg/mL (<2 µg/mL).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 033

CALPROTECTINA FECAL: UTILIDAD EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Autor/a/s: LUISA MARIA RUEDA DURAN, MARIA ANGELES MARTIN GARCIA, MIGUEL ANGEL RUIZ GINES, ROSALIA HORUBIA HERRERA, JOAQUIN BLANCO GARCIA, DOLORES BENITEZ SEGURA, RAQUEL TELLO SANCHEZ

Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Salud

Localidad: Toledo

Correo electrónico del primer firmante: lmrueda@sescam.jccm.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El diagnóstico de las enfermedades intestinales constituye, actualmente, un importante desafío. La sospecha clínica de una enfermedad orgánica intestinal implicará, frecuentemente, la práctica de una colonoscopia diagnóstica. Sin embargo, esta prueba no está exenta de un elevado porcentaje de falsos positivos. La enfermedad inflamatoria intestinal (EII), ya sea enfermedad de Crohn (EC) o colitis ulcerosa (CU), no presenta signos ni síntomas patognomónicos, por lo cual, su diagnóstico y manejo se basa en la combinación de datos clínicos, analíticos, radiológicos, endoscópicos y anatomopatológicos. Actualmente, existe una tendencia creciente a manejar la remisión de las EII basándose en datos objetivos de la actividad inflamatoria por vía endoscópica, en lugar de datos clínicos, pero, esto conlleva un mayor uso de la colonoscopia (prueba invasiva, molesta, no exenta de complicaciones y costosa). La calprotectina fecal (CF) es una proteína con propiedades antimicrobianas, que constituye el 60% de las proteínas citoplasmáticas de los granulocitos neutrófilos presentes en la mucosa intestinal. Su utilidad como marcador de inflamación de la EII, se basa en su relación, directamente proporcional, con el grado de actividad de los neutrófilos en la luz intestinal. Cuentan con la ventaja potencial de una mayor especificidad respecto a marcadores serológicos (VSG y PCR), que pueden elevarse en múltiples procesos inflamatorios (menor especificidad y sensibilidad).

Objetivos: Evaluar la sensibilidad y especificidad de la CF en la EII (EC y CU), valorando su utilidad como biomarcador de la actividad inflamatoria respecto a la forma tradicional (clínica y endoscopia) y correlacionar sus valores con el grado de actividad de la EII, así como su utilidad en el diagnóstico diferencial de las patologías digestivas, destacando la importancia del Laboratorio en su diagnóstico, manejo y tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio prospectivo, realizado sobre muestra poblacional de los pacientes con sospecha o diagnóstico de EII, estudiados por el Servicio de Digestivo de nuestro Hospital, para determinación de CF durante un periodo de tiempo de 20 días (n=30 pacientes). El diagnóstico y actividad de la patología intestinal se determinó con criterios endoscópicos e histológicos. Técnica analítica: La CF fue cuantificada mediante enzimoimmunoanálisis (ELISA), en laboratorio de referencia. Valor de referencia de normalidad (cut-off): 50 mg/Kg. Muestra y tratamiento de la muestra: Debido a la gran resistencia de la CF a la degradación bacteriana y estabilidad en heces, se requiere una única muestra de 5 g de heces, que se almacena en envase limpio y seco (sin conservantes). Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-4°C) durante 7 días o congelarse a -20°C (tiempo de preservación más prolongado). Para su procesamiento es necesario que la muestra esté totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente (22-27°C). Tratamiento estadístico: El análisis estadístico se realizó con los programas Excel 2013 y SPSS 20.

RESULTADOS:

Del total de pacientes estudiados, el 57% (17), fueron mujeres, siendo el 43% (13), varones. El 13% eran pacientes pediátricos. La edad media fue de 41,37 años (10-83). Los resultados de CF fueron 135,17 mg/Kg, con un mínimo y máximo de 16 y 500 mg/Kg, respectivamente. El 56,67% (17) de los pacientes fueron diagnosticados de EII (EC: 30%, CU: 23,3% y el 3,3% de EII en estudio, pendiente de filiación anatomopatológica), el 33,3% (10) de SII, y un 10% (3), de otras patologías o de normalidad. Dentro del motivo de consulta, el 86,7% (26) de los pacientes fue valorado por diarrea. El 88% de los pacientes remitidos a estudio por EII presentaban signos de alarma (moco, pus y/o sangre en las heces), mientras que ningún paciente diagnosticado de SII, presentó productos patológicos en las heces.

Respecto a los niveles de CF, obtuvimos una media de 195,47 mg/Kg en pacientes con EII y de 46,1 mg/Kg en pacientes con SII, mientras, que en otras patologías o en pacientes sanos, se obtuvo una media de 28,67 mg/Kg (<16-44 mg/Kg). En pacientes sin remisión o con diagnóstico reciente, las concentraciones de CF presentaron valores de 252,6 mg/Kg de media, mientras que el valor medio obtenido para discriminar la remisión endoscópica fue de 60,4 mg/Kg (<16-116 mg/Kg). En los pacientes con reactivación severa se obtuvieron valores superiores a 419 mg/Kg, siendo la complicación más frecuente la fistula o enfermedad perianal, seguida de la estenosis.

En nuestro trabajo, aunque la muestra poblacional obtenida es pequeña (30 pacientes), obtenemos una sensibilidad del 82% y una especificidad del 85% (IC del 95%), con VPP del 88% y un VPN del 79%, en la línea de los resultados obtenidos en otros estudios.

CONCLUSIÓN:

La CF es un marcador fiable de inflamación de la mucosa intestinal que permite discriminar aquellos pacientes con riesgo de EII, siendo capaz de valorar el grado de actividad inflamatoria tisular y su utilidad para monitorizar la respuesta terapéutica y predecir el riesgo de recidiva. El momento de la recidiva es impredecible y, un porcentaje importante de pacientes asintomáticos, presentan actividad inflamatoria endoscópica e histológica, retrasando una posible intervención terapéutica. Uno de los principales campos de la CF es su evaluación longitudinal al tratamiento, donde la normalización de los niveles de CF identificaba a los pacientes respondedores (<50 mg/Kg).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 035

RELACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES CIRCULANTES DE RETINOL Y ALFA-TOCOFEROL DETERMINADAS MEDIANTE HPLC Y LA FUNCIÓN RENAL DE LOS PACIENTES

Autor/a/s: Manuel Luque-Ramírez, Estrella Puente Manuela Reymundo M.Jesus Ortega, Olga Campos, Oscar Pastor y Marta Garcia Collía

Centro de trabajo: Hospital Universitario Ramón y Cajal

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: reymond_3@hotmail.com, estrellapuenteferreas2@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las vitaminas liposolubles, A (retinol) y E (α-tocoferol), se almacenan fundamentalmente a nivel hepático. Su determinación sérica se ve influenciada por el estado nutricional calórico-proteico y concentraciones de lípidos, respectivamente. Existen pocos datos en relación con el papel de la función renal en sus niveles circulantes fuera de la insuficiencia renal terminal. El objetivo del presente estudio fue analizar la relación entre función renal y concentraciones séricas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron consecutivamente las muestras de 100 sujetos (julio-diciembre/2014) remitidas al Servicio de Análisis Clínicos para determinación de concentraciones séricas de vitamina A y E (HPLC). Se recogieron la edad, sexo, motivo de petición, tasa de filtrado glomerular estimada [TFGe (MDRD-IDMS)] y datos de suplementación oral de estos sujetos. Los rangos de normalidad suministrados por el fabricante fueron 30-60 (A) y 500-1800 (E) μg/dl. Los datos se presentan como media ± DE (mínimo-máximo) y números crudos. Las variables continuas y dicotómicas se compararon mediante la prueba de U de Mann-Whitney, c² o exacta de Fisher, y la correlación entre

variables continuas mediante la prueba de Pearson o Spearman. Los determinantes de las concentraciones circulantes de vitamina A y E se analizaron mediante regresión lineal por pasos sucesivos. Una $P < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativa.

RESULTADOS:

Edad: 43 ± 13 (15-67) años; Sexo (H/M): 69/31; TFGé: 95 ± 21 (18-149) ml/min/1,72 m²; TFGé < 60 ml/min/1,72 m²: 5 sujetos. El motivo de petición más frecuente fue la evaluación pre- (33) o postoperatoria (28) de pacientes con indicación de cirugía bariátrica por obesidad grave, seguido de la evaluación nutricional de pacientes con fibrosis quística (7). Únicamente 7 y 6 sujetos se encontraban bajo suplementación oral con vitamina A o E, respectivamente. Las concentraciones circulantes en el conjunto de sujetos a estudio fueron de 47 ± 17 (18-134) mđg/dl para la vitamina A, y de 1.332 ± 597 (37-5.206) mđg/dl para la vitamina E. Siete y dos sujetos presentaron niveles de vitamina A y E, respectivamente, por debajo del rango de la normalidad, mientras que 13 y 11 unas concentraciones circulantes por encima de éste, respectivamente. Ni los diagnósticos de fibrosis quística, la intervención de cirugía bariátrica ni la suplementación oral fueron diferentes entre los sujetos con déficit o exceso. Los varones presentaron unas concentraciones circulantes mayores de vitamina A que las mujeres (49 ± 18 vs 42 ± 12 mđg/dl; $P = 0,034$). Las concentraciones circulantes de vitamina A correlacionaron de forma inversa con la TFGé (r : -0,304; $P = 0,002$), mientras que las de vitamina E lo hicieron de forma directa con la edad de los sujetos (r : 0,273; $P = 0,006$) e inversa con su TFGé (r : -0,500; $P < 0,001$). Aquellos sujetos con TFGé < 60 ml/min/1,72 m² presentaron unas concentraciones mayores de vitamina A (70 ± 40 vs 46 ± 15 mđg/dl; $P = 0,030$). La TFGé en sujetos con exceso de vitamina A circulante fue menor que en el resto de sujetos (82 ± 27 vs 97 ± 20 mđg/dl; $P = 0,038$), al igual que ocurrió en aquellos con exceso de vitamina E (87 ± 11 vs 96 ± 22 mđg/dl; $P = 0,017$). Los principales determinantes de las concentraciones de vitamina A en un modelo (R^2 : 0,14; $P < 0,001$) que incluyó como variables independientes la edad, sexo, TFGé y suplementación con vitamina A (SI/NO), fueron el sexo ($b\hat{d}$: 0,254; $P = 0,009$) y TFGé ($b\hat{d}$: -0,335; $P = 0,001$). El principal determinante de las concentraciones de vitamina E en un modelo (R^2 : 0,11; $P = 0,001$) que incluyó como variables independientes la edad, sexo, TFGé y suplementación con vitamina E (SI/NO), fue la TFGé ($b\hat{d}$: -0,340; $P = 0,001$).

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados sugieren una relación inversa entre la función renal y las determinaciones séricas mediante HPLC de vitaminas liposolubles A y E.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 036

COMPROBACION DE LA TRANSFERIBILIDAD DE RESULTADOS EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS EN UN PERFIL AMPLIADO

Autor/a/s: MARIA TRINIDAD HITA SANCHEZ, ROSA MARIA ANDREU PEREZ, CONCEPCION RUBIO SAMOS, INMACULADA CONCEPCION SAMPEDRO DE LA TORRE, TRINIDAD DIAZ RODRIGUEZ

Centro de trabajo: LABORATORIO URGENCIAS, HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

Localidad: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: maritrinihs@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO:

La transferibilidad es la propiedad de poder ser asumidos como propios los datos obtenidos por un laboratorio diferente, en el mismo laboratorio por un método diferente, o una instrumentación diferente al que los ha producido. En el Laboratorio de Urgencias se debe garantizar la calidad de los resultados y la transferibilidad de los mismos ya que suelen estar las técnicas por duplicado para garantizar la asistencia 24h.

El objetivo de este estudio es ver si los resultados en el Laboratorio de Urgencias, para las determinaciones del perfil ampliado, realizados en dos instrumentos diferentes son transferibles de acuerdo con los criterios de transferibilidad del Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios de Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) (Documento R) Quim Clin 1996; 15(6):442-444.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En nuestro Laboratorio de Urgencias disponemos de un doble sistema para determinaciones bioquímicas, los instrumentos son Clínicos Synchro UniCel DxC Beckman Coulter y utilizamos los controles bioquímicos suministrados por BECKMAN para comprobar las diferencias entre ambos, y aplicamos los criterios de la SEQC, que suponen que existe transferibilidad entre los resultados si la diferencia entre la media de los controles es inferior a un tercio de la variabilidad biológica intraindividual. En un perfil ampliado se hacen las determinaciones de Creatin Kinasa, Lactato Deshidrogenasa, Amilasa, Proteínas Totales, Bilirrubina Total y Bilirrubina Esterificada.

Utilizamos 3 controles de diferentes concentraciones, baja, media y alta, considerando un periodo de 3 meses, realizando cada control al menos una vez al día. Como se trata de la misma metodología los problemas de conmutabilidad propios de los materiales control desaparecen.

RESULTADOS:

Al comparar las diferencias entre las medias encontramos los siguientes resultados:

- Creatin Kinasa: es transferible a todos los niveles.
- Lactato Deshidrogenasa: es transferible a todos los niveles.
- Amilasa: es transferible a todos los niveles.
- Bilirrubina Total: es transferible a todos los niveles
- Proteínas Totales: es transferible en los niveles medio y alto.

CONCLUSIONES:

Existe transferibilidad en las determinaciones de Creatin Fosfoquinasa, Lactato Deshidrogenasa, Amilasa y Bilirrubina Total según el criterio de la SEQC en nuestro laboratorio; pero no existiría transferibilidad en las determinaciones de Proteínas Totales a niveles bajos (3.7 g/dL), sin embargo las diferencias máximas existentes son del 1% y consideramos que no tienen ninguna trascendencia clínica, por lo que asumimos que los resultados son transferibles para esta magnitud.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 038

TECNICA DE SOH COMO DIAGNOSTICO PRECOZ DEL CANCER COLORRECTAL

Autor/a/s: Sancho García, Alejandra y Viguera Sarabia, Noelia

Centro de trabajo: H.C.U. "Lozano Blesa"

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cáncer colorrectal es uno de los cánceres con mayor incidencia en España entre la población general, teniendo en cuenta todos los que afectan a hombres y mujeres. La determinación de Sangre Oculta en Heces (SOH) es una pieza clave en la detección precoz de dicho cáncer.

OBJETIVOS:

El objetivo de éste cribado es aumentar los diagnósticos de lesiones en estadios precoces, asegurando un nivel óptimo de calidad en el proceso y mejorar la eficiencia de los recursos actuales. De ésta manera, se facilita a los pacientes del programa, el acceso a los medios diagnósticos y terapéuticos en un plazo adecuado.

MATERIAL:

En el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza, se ha realizado un cribado de 2700 muestras procedentes de pacientes de riesgo medio, es decir, sin otros factores de riesgo conocidos y de edades comprendidas entre los 60 y 69 años. Todas estas muestras llegaron a nuestro laboratorio, procedentes de los diversos centros de salud del Sector III de la Comunidad Autónoma de Aragón durante el período Febrero del 2014 a Febrero de 2015.

La muestra, la recogerá el mismo paciente con un sencillo kit, que se le facilitará junto a las instrucciones. Sólo será necesario aproximadamente 10 mg de heces para su procesamiento. Ésta muestra se trabajará en un novedoso equipo llamado SENTIFIT de la casa SYSMEX, que presenta características que lo hacen útil para su empleo en éste tipo de diagnósticos, siendo capaz de analizar hasta 270 muestras a la hora. El equipo trabaja con dos reactivos de latex, un diluyente y solución de lavado. Se le realiza un control de dos niveles diariamente además de estar sometido a un control de calidad externo.

MÉTODO:

Estamos utilizando un método específico para la detección de la hemoglobina humana, basado en la reacción de aglutinación antígeno-anticuerpo. Ésta aglutinación se mide como un incremento de la absorbancia a 570 nm y es proporcional a la cantidad de hemoglobina humana presente en la muestra. Si la muestra presenta una cantidad elevada de hemoglobina, debido al efecto prozona, el equipo realizará de manera automática una dilución.

RESULTADOS:

En el período de estudio, dicha técnica ha permitido identificar en torno al 10% de positivos, encontrando diferencias significativas entre sexos, siendo el porcentaje en hombres de un 13% y en mujeres de un 8%. Las incidencias más detectadas que nos hemos encontrado, están producidas en la fase pre-analítica, por un mal uso del contenedor por parte del usuario (1.02 %).

CONCLUSIONES:

Con esta técnica no invasiva y de fácil recolección para el paciente, conseguimos que afloren resultados positivos en estadios precoces con un coste mínimo si lo comparamos con otras técnicas.

El equipo SENTIFIT, nos ha permitido asumir una importante carga de trabajo de una manera rápida, sencilla y fiable. La técnica de Sangre Oculta en Heces, resulta muy útil en los cribados para complementar el estudio junto a otras pruebas diagnósticas.

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CALPROTECTINA FECAL

Autor/a/s: GONZÁLEZ GARCÍA LAURA, GÓMEZ MARTÍN BELEN, HIERRO DELGADO CARLOS

Centro de trabajo: HOSPITAL NUESTRA SEÑORA DE SONSOLES

Localidad: ÁVILA

Correo electrónico del primer firmante: laura-go-garcia@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El test de la Calprotectina fecal según la guía clínica del National Institute for Health and Care Excellence (NICE) se recomienda para la ayuda del diagnóstico diferencial entre enfermedad inflamatoria intestinal y síndrome del colon irritable. La concentración de Calprotectina fecal se relaciona directamente con el número de granulocitos neutrófilos presentes en la luz intestinal por eso es un marcador muy sensible y específico que indica la presencia de inflamación intestinal. La calprotectina permanece estable en heces hasta 7 días, se determina de forma sencilla y barata mediante ELISA y sus niveles se correlacionan bien con la actividad inflamatoria endoscópica e histológica.

OBJETIVOS:

Comparar la concordancia de los resultados de calprotectina fecal (CPF) obtenidos por el método EliA Calprotectin (Thermo Fisher Scientific) frente al método de referencia Calprest® (Eurospital) para utilizarlo en nuestro hospital.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha realizado la determinación de la CPF a 22 adultos (>16 años) por dos métodos EliA Calprotectin (Thermo Fisher Scientific) y Calprest® (Eurospital). Para el método EliA se ha utilizado como sistema de extracción el EliA Stool Extraction Kit (Thermo Fisher Scientific) y para el método Calprest® el sistema Stool Collection Device (Eurospital). Para ambos métodos se considera un resultado positivo un valor de CPF superior a 50 mg/Kg. Los rangos de medición para cada técnica son diferentes siendo de 15-3000 mg/Kg para EliA Calprotectin y de 15-500 mg/Kg para Calprest®. Se calculó el índice de concordancia Kappa (K) mediante el programa estadístico MedCalc Software.

RESULTADOS:

En el análisis de concordancia considerando el valor de corte de CPF igual a 50 mg/Kg se ha obtenido los siguientes resultados: KAPPA=0.908

CONCLUSIONES:

El método EliA Calprotectin tiene una muy buena correlación con el método usado hasta ahora en el laboratorio externo lo que nos permite utilizarlo para la determinación de calprotectina fecal en nuestro laboratorio.

MARCADORES BIOQUÍMICOS EN EL DIAGNÓSTICO DE FISTULA DE LIQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

Autor/a/s: Ares Vidal Olga, Lorenzo García Lourdes, Del Dedo Torre M^a Angeles

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La proteína b δ -traza y b δ 2-transferrina son marcadores bioquímicos específicos de líquido cefalorraquídeo (LCR). Su medición en las secreciones nasales y óticas se utiliza para el diagnóstico de las fistulas de Líquido Cefalorraquídeo (LCR). El marcador más utilizado es la proteína b δ -traza, aunque presenta limitaciones como son la alteración de sus valores en la insuficiencia renal y en la meningitis, así como la existencia de una zona gris próxima al punto de corte diagnóstico que dificulta la interpretación del resultado, y hace necesaria la detección de la b δ 2-transferrina.

OBJETIVOS:

Evaluar la utilidad de ambas proteínas en la detección de LCR en secreciones nasales, óticas y heridas quirúrgicas y establecer un punto de corte diagnóstico en la proteína b-traza.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se midieron las dos proteínas en 40 muestras de secreciones nasales, óticas y heridas quirúrgicas, procedentes de 30 pacientes con sospecha de fistula de LCR. La confirmación de la fistula se realizó por criterios clínicos, quirúrgicos, administración intratecal de fluoresceína y/o técnicas de imagen.

Todos los pacientes tenían una creatinina en suero inferior a 1.1 mg/dL.

La proteína b δ -traza se midió por inmunonefelometría en un BN proSpec (Siemens). La b δ 2-transferrina se detectó por inmunofijación, realizada en el sistema Hydrasys (Sebia).

Se calculó la sensibilidad y especificidad diagnóstica para ambas proteínas. Para la proteína b δ -traza se obtuvo el punto de corte mediante un análisis de curva ROC. Se utilizó el programa estadístico SPSS.

RESULTADOS:

En 19 muestras se confirmó el diagnóstico de fistula de LCR, en 17 el diagnóstico fue negativo y en 4 no pudo establecerse. La b δ 2-transferrina presentó una sensibilidad del 78 % (Intervalo confianza 95% = 52-93) y una especificidad del 88% (Intervalo confianza 95% = 63-98). Para la proteína b δ -traza en el grupo con diagnóstico positivo la mediana fue de 14.1 mg/L (intervalo intercuartílico = 2.64-28.12 mg/L), en el grupo negativo la mediana fue de 0.39 mg/L (intervalo intercuartílico = 0.17-0.53 mg/L). El área bajo la curva (AUC) obtenida fue de 0.972 (Intervalo confianza 95% = 0.912-1.00). Con un punto de corte de 0.76 mg/L se obtuvo una sensibilidad del 94% (Intervalo confianza 95% = 73-99) y una especificidad del 100% (Intervalo confianza 95% = 69-100).

En los 4 pacientes sin diagnóstico definido los resultados de ambas proteínas fueron negativos.

Se encontró una diferencia casi significativa ($p = 0.064$) entre las características diagnósticas de ambas proteínas.

CONCLUSIONES:

Ambas proteínas son buenos marcadores de la presencia de LCR en las secreciones, si bien la proteína b δ -traza presenta mejor sensibilidad y especificidad.

Para la proteína b-traza, se propone un punto de corte de 0.76 mg/L. La obtención de un resultado superior al mismo, sugiere la presencia de LCR en la secreción analizada y apoya el diagnóstico de fistula de LCR.

LLEGADA DE MUESTRAS FUERA DE CIRCUITO

Autor/a/s: NAVAJAS PAQUI, ORTEGA OLGA, ORTIZ PAQUI, VIDAL CONSTANÇA

Centro de trabajo: CATLAB

Localidad: VILADECALLS

Correo electrónico del primer firmante: fnavajas@catlab.cat

RESUMEN:

Recepción de muestras catlab: Llegada de muestras fuera de circuito Navajas Paqui, Ortega Olga, Ortiz Paqui, Vidal Constança

Catlab, Viladecavalls.

INTRODUCCIÓN:

El laboratorio central de Catlab da cobertura a 1.000.020 habitantes, con una media de 3500 peticiones /día y 8 millones de determinaciones/año. Entre estas peticiones nos llegan las de consultas externas y las de planta de los tres hospitales a los que Catlab presta servicio (Consorci Sanitari de Terrassa, hospital de Martorell y Hospital Universitario Mutua de Terrassa)

OBJETIVOS:

Dentro de las neveras de origen hospitalario era frecuente encontrar sobres dirigidos a distintas áreas o personas del laboratorio con muestras en condiciones especiales, placas, formulas y otro contenidos. Un objetivo del área de Recepción de muestras del año 2014 fue estandarizar el tratamiento a este tipo de muestras, para poder tener la trazabilidad total de las muestras.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se hizo un seguimiento durante dos semanas de todas las muestras que llegaban en estas condiciones, se consensuó con todas las áreas como mejorar la llegada de estas muestras y si era necesario que llegaran separadas en sobres o no.

En el programa GIN (Gestión Integral de Neveras) que ya teníamos funcionando se creó una pestaña nueva para el control de llegada y recogida de los sobres que se consideran estrictamente necesarios, de esta forma queda registrado el técnico que recoge el sobre de la nevera y la persona del área que lo recibe, así como la hora de llegada y recogida y en algunos casos, cuando dentro del sobre hay muestras, la identificación de las mismas

RESULTADOS:

Con el estudio y mejora de este circuito, hemos pasado de una media de 284 sobres al mes a una media de 50 sobres al mes. Se ha provisto a los laboratorios de cada hospital de más neveras de transporte, actualmente disponen de: Nevera de transporte a T^a ambiente para muestras de Citogenética y/o otros destinos, nevera a T^a entre 4-15°C para transporte de muestras en condiciones de frío y neveras entre 15-25°C para el resto de las muestras.

Las muestras urgentes se colocan en contenedores especiales dentro de las neveras, sin necesidad de utilizar sobres.

CONCLUSIONES:

Esta mejora del programa GIN, nos permite tener una mayor trazabilidad de la llegada de muestras que precisan unas condiciones especiales, por área y globalmente. También se han creado dos nuevos indicadores de calidad para la mejora continua del área de Recepción de muestras

ENFERMEDAD INVASIVA: INFRavalORACIÓN DEL STREPTOCOCCUS PYOGENES

Autor/a/s: RODRIGUEZ RODRIGUEZ, INMACULADA; VILLARRUBIA MARTIN-VILLAMUELAS, ELVIRA; ESCOLANTE DE LA CRUZ, MIRIAM; MORENO RICAS, CONCEPCION; GONZALEZ MONTES, ANA MARIA; OPORTO LÓPEZ, LAURA; MENCIA GARCÍA, MARIA CARMEN; OLIVAN ESTEBAN, RAQUEL.

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO DE TOLEDO

Localidad: TOLEDO

Correo electrónico del primer firmante: inrora31@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los Streptococcus del Grupo A (SGA) continúan siendo una de las mayores causas de enfermedad infecciosa, relacionada con una importante morbi-mortalidad en el mundo. A pesar de presentar un curso clínico leve, en un porcentaje importante, aproximadamente un 15%, llegan a progresar a enfermedad invasiva grave (sepsis severa con disfunción multiorgánica). Tras décadas de disminución de la mortalidad y morbilidad, se comienza a observar un resurgimiento de infecciones invasivas por SGA. La causa se desconoce, barajando múltiples hipótesis tanto sobre posibles alteraciones del sistema inmunitario, como del incremento en la capacidad infectiva de la bacteria. En Europa se estima una incidencia que varía entre 0,06 y 4,8 pacientes/100.000 habitantes/año.

OBJETIVOS:

En el presente trabajo, nuestro objetivo es presentar un caso severo de infección invasiva por Streptococcus pyogenes secundario a infección faríngea refractaria a tratamiento en una niña de 13 años de edad. Con resultado de shock séptico y disfunción multiorgánica severa, asociado a síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA), mediante el cual pretendemos evidenciar la importancia que tiene hoy en día en nuestro medio un correcto diagnóstico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Exponemos el caso de una niña de 13 años de edad, que acude al Servicio de Urgencias por cuadro de fiebre de más de 48 horas de evolución, con mal estado general, asociado a vómitos, dolor abdominal, cervical y cefalea. Coincidiendo con pico febril presenta episodio puntual de visión borrosa, desconexión con el medio e hipotonía de unos segundos de duración. No presenta síntomas urinarios ni respiratorios. Se objetiva la presencia de anuria. En la exploración física se constata hipotermia (temperatura de 34,9°C), taquicardia (125 lpm), hipotensión severa (48/26 mmHg), frecuencia respiratoria de 18 rpm, SatO₂ basal de 89% y escala de coma Glasgow de 14. Aspecto séptico. No se observan exantemas ni petequias, aunque sí una baja perfusión periféricas con acrocianosis distal y palidez de labios. Pulsos débiles (femorales y radiales disminuidos). La auscultación pulmonar y cardíaca no revela alteraciones de interés (buena entrada de aire bilateral, tono rítmico, sin soplos y presencia de taquicardia). Abdomen blando, depresible y no doloroso.

Analizador: Los diferentes parámetros bioquímicos y hematológicos se determinaron en los siguientes analizadores: Analizador Vitros® 5600 (Orthoclinical-Diagnostics), analizador de gases Gem® Premier 3000 (IL-Werfen Company), analizador Cobas® e411 (Roche Diagnostics), analizador de hematología automático Coulter® LH 750 (Beckman Coulter) y coagulómetro ACL TOP® 500 TCS (IL-Werfen Company).

Centrífuga: Kubota® 8420 y Kubota® Compact Tabletop 2420 (programación a 3500 rpm, 10', temperatura ambiente).

Muestra: Suero (tubo de bioquímica de 10 ml con separador de gelosa BD Vacutainer®). Sangre total (jeringa BD Preset® con heparina de litio balanceada 3 ml y tubo de 5 ml con EDTA-K3 al 15% BD Vacutainer®). Plasma (tubo de coagulación de 5 ml con citrato al 3,8% BD Vacutainer®).

RESULTADOS:

Se aportan los resultados más relevantes del Laboratorio. Bioquímica: Glucosa 94 mg/dL (60-100), Urea 49 mg/dL (10-71), Creatinina 2,34 mg/dL (0,5-1,2), Sodio 133,4 mEq/L (132-146), Potasio 3,69 mEq/L (3,7-5,4), Cloro 98,6 mEq/L (94-110), GPT 54 mU/mL (5-40), GOT 49 mU/mL (5-37), Proteína C reactiva > 90 mg/L (0-8), Procalcitonina > 100 ng/mL (< 0,5 bajo riesgo de sepsis severa y/o shock séptico, > 2 ng/mL riesgo elevado de sepsis severa y/o shock séptico). Hemograma: Hematíes 4,58x10¹²/L (4-5), Hemoglobina 14 g/dL (12-15), Hematocrito 42,2% (37-47), V.C.M. 92,1 fl (80-99), H.C.M. 30,6 pg (27-31), C.H.C.M. 33,2 g/dL (33-37), A.D.E. 12,2% (11,5-14,5), Leucocitos 16x10⁹/L (4,5-11), Cayados 39% (3-5), Segmentados 56% (50-70), Linfocitos 4% (25-40) y Monocitos 1% (2,5-13). Coagulación: Tiempo de protrombina 54% (70-150), I.N.R. 1,5 (0,6-1,3), Tiempo de Cefalina 41,2 seg (20-37 seg, control 30 seg), Fibrinógeno (derivado) 619 mg/dL (150-600), Plaquetas 167x10⁹/L (120-500).

Microbiología: Test rápido para estreptococos del grupo A (Nadal® Strep A, nal-von-minden®, tira reactiva, muestra faringo-amigdalár): positivo, que posteriormente fue confirmado por hemocultivos, aislándose Streptococcus pyogenes.

Evolución: Ante el diagnóstico de shock séptico con fallo multiorgánico se ingresa a la paciente en UCI, donde fue intubada, requiriendo de tratamiento con sustancias vasoactivas para conseguir estabilidad hemodinámica, hemofiltración y tratamiento antibiótico con Ceftriaxona y Vancomicina. Su situación clínica mejoró lentamente, hasta completa recuperación.

CONCLUSIÓN:

Se estima que se producen aproximadamente 500.000 muertes/año por SGA, situando al Streptococcus pyogenes como uno de los mayores patógenos del hombre, solamente superados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), Mycobacterium tuberculosis, Plasmodium falciparum y Streptococcus pneumoniae. Se consideran que los SGA y entre ellos el Streptococcus pyogenes, son responsables, a largo plazo, de mayor morbilidad comparados con estos patógenos. La importancia de esta comunicación radica en que la infección por SGA ha sido infravalorada.

Como ocurrió con nuestra paciente, la mayoría de los casos de infección por SGA son adquiridos en la comunidad, y menos del 10% de los casos son intrahospitalarios. Encontrando un mayor número de casos de faringitis estreptocócica en niños.

Consideramos que se deberían instaurar medidas de vigilancia y monitorización de los casos de las infecciones por SGA. La sepsis continúa teniendo una elevada mortalidad. En diferentes estudios se indican tasas de mortalidad de entre 14-18%, alcanzando el 40% en las formas de sepsis grave o shock séptico. La prevalencia de casos con bacteriemia alcanza tasas del 56-85%.

Por ello, consideramos que el manejo en los Servicios de Urgencias adquiere una importancia crucial, centrándose en un diagnóstico precoz, y una rápida instauración de tratamiento antibiótico y de las medidas intensivas de soporte necesarias. Recomendaríamos la utilización de test antigénicos de detección rápida de infección estreptocócica en los Servicios de Urgencias y Atención Primaria, con lo que se conseguiría mejorar la detección del patógeno, con la consiguiente disminución de la prescripción antibiótica en pacientes con resulta-

do negativo, y la posibilidad de seguimiento de la infección, evitando graves complicaciones y tórpidas evoluciones con alta mortalidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 075

HORMONA ANTIMÜLLERIANA: UTILIDAD EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Autor/a/s: MORENO RICAS, CONCEPCION; RODRIGUEZ RODRIGUEZ, INMACULADA; VILLARRUBIA MARTIN-VILLAMUELAS, ELVIRA; ESCOLANTE CRUZ, MIRIAM; GONZALEZ MONTES, ANA MARIA; OPORTO LÓPEZ, LAURA; MENCIA GARCIA, MARIA CARMEN; OLIVAN ESTEBAN, RAQUEL.

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO DE TOLEDO

Localidad: TOLEDO

Correo electrónico del primer firmante: cricax19@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La reserva ovárica (RO), representada por la cantidad y calidad de los folículos, disminuye con la edad en la mujer fértil, dando lugar a una disminución de su capacidad reproductiva. Aunque la edad media de la menopausia es de 51 años, hay una gran variabilidad individual, por lo tanto, sería fundamental disponer de un biomarcador que nos informara, con cierta exactitud, del periodo fértil que dispone una mujer y predecir la respuesta a tratamientos en Reproducción Asistida (RA). La hormona anti-mülleriana (AMH) podría considerarse como el biomarcador de elección en la estimación de la RO. Es una glicoproteína producida por las células granulosas de los folículos preantrales (primarios y secundarios) y antrales de pequeño tamaño, que actúa inhibiendo el reclutamiento de los folículos primordiales y el crecimiento folicular dependiente de la hormona folículo estimulante (FSH). Al expresarse exclusivamente en las células granulosas de los folículos no seleccionados, se convierte en un candidato ideal para representar tanto la cantidad como la calidad del pool de folículos ováricos.

Objetivo: Valorar la utilidad de la AMH, en la toma de decisiones en el manejo de pacientes que acuden por problemas de infertilidad a la Unidad de RA, como predictor de respuesta ovárica.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio descriptivo y retrospectivo, sobre muestra de pacientes a los que se solicitó determinación de AMH, durante el año 2013 (n=125 pacientes): 122 mujeres adultas, que acuden a la Unidad de RA para tratamiento de infertilidad (imposibilidad de embarazo tras un año de relaciones sexuales regulares y sin el uso de métodos anticonceptivos); 1 varón de 40 años de edad, también en la Unidad de RA, para determinar su reserva testicular en pareja con incapacidad de concebir; 1 niña de 2 años de edad y 1 niño de 12 años de edad en estudio por parte del Servicio de Pediatría por trastorno de pubertad precoz.

METODOLOGÍA:

La AMH fue cuantificada mediante enzimoimmunoanálisis (ELISA), en laboratorio externo de referencia.

Muestra, procesamiento y almacenamiento: Volumen de 1 mL de plasma (heparina) o suero (separación inmediata después de formación del coágulo). Las muestras fueron obtenidas en el tercer día del ciclo menstrual (aunque, como la determinación se puede realizar en cualquier momento del ciclo, como posteriormente comentaremos, ninguna muestra fue rechazada para análisis) y almacenadas a -20 °C para proceder a envío, evitando fases repetidas de congelación y descongelación de las muestras.

Valores de referencia utilizados para evaluar la RO: 0,2-1,0 ng/mL (RO baja); 1,0-3,0 ng/mL (RO normal); > 3,0 ng/mL (riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica). En niños, dependiendo de la edad (< 1 año, 1-6 años, 7-11 años y 12-17 años), los valores oscilan desde 34,3 ng/mL hasta 262 ng/mL, siendo en niñas de 0,3 a 11,21 ng/mL. Por último, en varones se utilizan valores de 1,3 a 14,8 ng/mL.

RESULTADOS:

De los 125 pacientes a estudio, el 97,6% (122) eran mujeres adultas. De ellas, 45 pacientes (36,88%), presentaban una RO dentro de la normalidad, con un valor medio de AMH de 1,68 ng/mL (rango: 1,1-2,6 ng/mL) y una edad media de 34,67 años (rango: 28-40 años). 66 pacientes (63,12%), tenían un valor medio de AMH de 0,43 ng/mL (rango: < 0,1-1 ng/mL), correspondiendo a RO baja. La media de edad de las pacientes patológicas fue de 35,60 años (rango: 25-40 años).

De las 66 pacientes con valores de RO baja, 13 consiguieron el embarazo tras técnica de FIV (19,7%) tras el 2º o más ciclos de estimulación (AMH > 0,8 ng/mL), mientras que el 80,3% (53 pacientes) tuvieron que ser sometidas a técnicas de ICSI (inyección intracitoplásmica de espermatozoides) o donación de ovocitos (< 0,8 ng/mL).

De las pacientes con valores de AMH dentro de valores correspondientes a RO normal, consiguieron gestación de forma natural (cambios en el estilo de vida) o con técnica de FIV tras el 1º ó 2º ciclo de estimulación, no teniendo constancia en el seguimiento de estas mujeres, de haber requerido técnicas de ICSI o donación de ovocitos.

Se observó la presencia de 3 pacientes (2,46%), con una media de edad de 35,33 años (27, 35 y 44 años) y que según sus niveles de AMH presentaron riesgo de hiperestimulación ovárica tras ciclo de estimulación (> 3,0 ng/mL), dos de estos pacientes tenían niveles de 3,2 ng/mL y una paciente niveles de hasta 11 ng/mL, en las cuales se llegó a objetivar un alto número de ovocitos (superior a 10). Únicamente un varón adulto de 40 años de edad con un valor de AMH de 3,2 ng/mL fue estudiado para valoración de su reserva testicular.

Por último, destacar, dos niños en estudio por pubertad precoz (niña de 2 años y niño de 12 años, con niveles de AMH > 22 ng/mL y de 7,1 ng/mL, respectivamente).

CONCLUSIONES:

El retraso en la edad de la maternidad hace necesaria una evaluación precisa de la RO, especialmente, en las mujeres que acuden a la unidad de RA para tratamiento de la infertilidad, al aportar una información fundamental sobre el tratamiento más adecuado (mala respuesta a la estimulación ovárica, cancelación de ciclos, mayores tasas de fracaso de embarazo y aborto). Se ha relacionado con la calidad y el número de ovocitos, así como, también, de predictor de gestación.

Nuestros resultados confirman la utilidad de la AMH, como un buen predictor de respuesta ante tratamientos de pacientes con problemas de infertilidad (RO baja vs RO normal), aunque, debemos puntualizar que por sí sola no es indicativa de realizar o no un tratamiento, pero, junto con otros marcadores (FSH, estradiol, recuento de los folículos antrales), nos ayudaría en la toma de las decisiones terapéuticas más adecuadas y del posible éxito. Una ventaja primordial de la AMH sobre otros marcadores de RO, es la posibilidad de medir su concentración en cualquier momento del ciclo menstrual, al carecer de variaciones en las diferentes fases del ciclo.

Por último, podríamos destacar, su posible utilidad en la evaluación de las alteraciones de la foliculogénesis (síndrome del ovario poliquístico y fallo ovárico precoz), de la reserva testicular y de alteraciones en edad pediátrica (pubertad precoz y retrasada y los trastornos del desarrollo sexual).

ESTUDIO RETROSPECTIVO DE ERRORES PREANALITICOS EN EL LABORATORIO DE RESPUESTA HOSPITALARIA

Autor/a/s: Serrano Fernández, María Inés.; Navarro Plaza, Ana Flor; García Tirador, Francisco

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: ines82serrano@hotmail.com

RESUMEN:**OBJETIVO:**

El objetivo de este estudio es conocer las causas más frecuentes de errores o incidencias preanalíticas de las muestras recibidas en el laboratorio de repuesta hospitalaria del Hospital Virgen de las Nieves de Granada.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizan, de forma retrospectiva y gracias a su registro en el sistema informático del laboratorio de urgencias SIL (Modulab Gold, IZASA), todas las peticiones de carácter urgente remitidas a nuestro laboratorio durante los meses de enero a diciembre 2014. Se analiza el tipo de incidencia preanalítica, así como las causas más frecuentes de error.

RESULTADOS:

En el periodo estudiado se procesaron en nuestro hospital un total de 150381 peticiones de carácter urgente. Las muestras procesadas en nuestro laboratorio fueron un total de 291981 muestras, de las cuales 17404 tenían algún tipo de incidencia (5,96%). Por tipo de contenedor, la incidencia más frecuente la encontramos en la determinación de BNP (13,7%), seguida de la muestra de Bioquímica (9,75%), la muestra de Líquidos (8,96%) y Orinas (7,99%). Destaca el bajo número de incidencias detectadas en la muestra de Hemograma con sólo un 1,86%.

Las incidencias más frecuentes se muestran en la siguiente tabla:

Muestra hemolizada	10276	59.04%
Muestra no recibida	2630	15.11%
Muestra coagulada	1635	9.39%
Muestra insuficiente	1272	7.31%
Otros	947	5.44%
Falta Reactivo	295	1.70%
Contenedor Inadecuado/Tubo incorrecto	178	1.02%
Determinación Interferida.	171	0.98%
TOTALES	17404	100.00%

CONCLUSIONES:

Gracias al registro informático en el SIL del laboratorio de las incidencias de la fase preanalítica, disponemos de datos e indicadores necesarios para la mejora del proceso. El motivo de rechazo más importante en nuestro laboratorio es 'Muestra Hemolizada', por lo que podría ser útil la comunicación con los responsables de extracciones para mejorar este punto. Hemos detectado que no existe un consenso entre todos los responsables de validación a la hora de reflejar el tipo de incidencia preanalítica, así que nos hemos marcado el objetivo de unificar criterios.

RESULTADOS DEL PROGRAMA DE SALUD PÚBLICA PARA LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER COLORRECTAL DE LOS DOS ÚLTIMOS AÑOS EN EL DEPARTAMENTO 10 DE VALENCIA

Autor/a/s: MEDIAVILLA PEREZ PAULINA, MOLADA LÓPEZ INMACULADA, CASTAN CAMEO SUSANA, ACEBEDO LEON DELIA.

Centro de trabajo: HOSPITAL DOCTOR PESET

Localidad: VALENCIA

Correo electrónico del primer firmante: pauletamp@hotmail.com

RESUMEN:**INTRODUCCIÓN:**

Basado en que la mayoría de los cánceres colorrectales avanzados y muchos de los precoces o los grandes pólipos de colon sangran, el estudio del sangrado digestivo oculto ha demostrado ser una herramienta útil.

El Programa de Prevención de cáncer colorrectal de Salud Pública ya está implantado en otras Áreas de Salud de la Comunidad Valenciana. En nuestro Departamento es de aplicación de 60-69 años. En este año 2015 el rango de pacientes de Salud Pública va a incluir a las personas entre 50 y 59 años.

OBJETIVO:

Resumir los resultados de las muestras remitidas por Salud Pública dentro del Programa de prevención del CCR en los dos últimos años, en cuanto a personas participantes, tasa de positividad del test y resultados de la colonoscopia.

MATERIAL Y MÉTODOS:**Muestras**

Las muestras que se han estudiado son las realizadas en nuestro hospital durante los años 2013 y 2014, siendo un total de 10.498 muestras.

El grupo poblacional abarcado en el Programa de Salud Pública ha sido los sujetos en edades comprendidas entre 60 y 69 años. Las muestras de heces se recogen en unos tubos colectores especiales que llevan un tampón donde se va a realizar la suspensión.

Método

Las muestras fueron procesadas en el autoanalizador de sobremesa OC-SENSOR (Eiken Chemical Co, LTD), distribuido por Biogen Diagnóstica.

Se trata de un inmunoensayo turbidimétrico con medición cuantitativa de la reacción inmunológica que tiene lugar al unirse la hemoglobina humana (antígeno) contenida en las heces con los anticuerpos monoclonales fijados a partículas de látex frente a la misma. La aparición de turbidez debida a la aglutinación de los complejos antígeno-anticuerpo puede detectarse fotométricamente (a 660 nm), cuya variación se incrementa en proporción a la concentración de hemoglobina en la muestra.

RESULTADOS:

De las 10.498 muestras, fueron positivas en el test de sangre oculta 757 (7.21 %).

Resultados de la colonoscopia:

- Número de personas con patología benigna: 193 (1.83 %).
 - Número de personas con patología adenomatosa en seguimiento: 426 (4.06 %).
 - Número de personas con cáncer colorrectal: 40 (0.38 %).
- Rehusaron la colonoscopia: 56 (0.53 %)

CONCLUSIONES:

Llama la atención que, aunque el porcentaje de cánceres detectados es bajo, el número de personas con patología adenomatosa es importante, que a la larga acabarán abocando en cáncer. Es importante que se puedan seguir todos estos casos por el aumento de la supervivencia al detectarse en una etapa muy precoz y por el ahorro económico que supone al evitar tratamientos más drásticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 085

IMPORTANCIA DE LA CUANTIFICACION DE PROCALCITONINA EN UNIDADES DE CUIDADOS INTENSIVOS PARA EL DIAGNOSTICO DE SEPSIS EN EL AREA DEL COMPLEJO HOSPITALARIO LA MANCHA CENTRO

Autor/a/s: EGEDA ORTIZ, PILAR; CORTES EGEDA, PATRICIA; REDONDO CHOZAS, MARIA DOLORES

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO LA MANCHA CENTRO

Localidad: ALCAZAR DE SAN JUAN

DCorreo electrónico del primer firmante: PILAREGEDA@HOTMAIL.COM

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La Procalcitonina (PCT) es un péptido precursor de la hormona Calcitonina que en situaciones de infección, diferentes tejidos corporales la segregan al torrente sanguíneo.

La sepsis constituye una de las principales causas de morbilidad en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI). Para mejorar la supervivencia de los pacientes sépticos es imprescindible el diagnóstico y el tratamiento temprano de los mismos. El empleo de pruebas del laboratorio, facilita la detección de la sepsis.

La PCT es un marcador precoz de diagnóstico de infección bacteriana, altamente sensible y específico de sepsis, la determinación del pronóstico del paciente y su respuesta al tratamiento antibiótico. Sus resultados en ng/mL se estratifican en cinco niveles: Nivel I (<0,05) sin infección, Nivel II (0,05-0,5) infección local, Nivel III (0,5-2,0) infección sistémica, Nivel IV (2,0-10,0) sepsis y Nivel V (>10,0) shock séptico.

OBJETIVO:

El objetivo de nuestro estudio es evaluar la utilidad de concentraciones plasmáticas de PCT para diagnóstico y seguimiento de sepsis en pacientes de UCI, frente a marcadores clásicos como el número de Leucocitos y el nivel plasmático de Proteína C reactiva (PCR).

MATERIAL Y MÉTODOS:

Para nuestro estudio se revisaron 126 pacientes ingresados en las UCI y pediatría, entre los meses de abril y octubre de 2014.

Los niveles de PCT se realizaron en muestras de plasma heparina de Litio, en un autoanalizador cobas e 601 (Roche diagnostics®), mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia con separación magnética.

Los niveles de PCR se realizaron en muestras de plasma heparina de Litio en un autoanalizador cobas c 501 (Roche diagnostics®) mediante inmunoturbidimetría potenciada por partículas.

Los niveles de leucocitos se realizaron en muestras de sangre total con EDTA en un autoanalizador LH 780 (Beckman Coulter®) mediante impedancia electrónica.

RESULTADOS:

De un total de 126 pacientes ingresados en la UCI de adultos y pediatría, 37 (29%) presentaron niveles de PCT >2,0 ng/mL. En todos ellos aparecieron crecimiento bacteriano en una/diversas muestras biológicas (sangre, orina, exudados, esputos, etc...).

El número de muestras con PCT >2,0 ng/mL, nivel de PCR >10,0 mg/dL (20 veces el valor normal) y el valor de leucocitos >12000 leucocitos/mm³ (compatible con cuadros reactivos), es de únicamente 10 (27% de pacientes de nivel III o mayor), datos compatibles con diagnóstico de sepsis.

4 de los pacientes presentaron PCT >2,0 ng/mL con niveles de PCR y leucocitos normales (<0,5 mg/dL y <12000 mm³). Esto supone un 3% del total y un 10,8% de pacientes con PCT en nivel III o superior.

En 15 de los casos (12% del total) se obtuvieron PCT en nivel I o nivel II con PCR y leucocitos elevados (>10,0 mg/dL y >12000/mm³).

CONCLUSIONES:

De los resultados observados podemos concluir que los niveles de PCT son más sensibles y específicos que el grado de leucocitosis y el nivel de PCR para ayuda al diagnóstico precoz de sepsis, teniendo en cuenta el sesgo establecido por nuestra población, como se describe en otros estudios y revisiones sobre el tema.

Empleando los puntos de corte de sepsis establecidos en nuestra población: PCT>2,0 ng/mL, PCR>10,0 mg/dL y leucocitos >12000 / mm³, solo 10 de los 36 pacientes (27%) presentan los tres parámetros acordes con la patología posteriormente confirmada. Debido a la mayor especificidad y sensibilidad de PCT, debe emplearse como parámetro fundamental para decidir aportar tratamiento antibiótico empírico.

Los niveles de PCR y leucocitos, por sí solos no pueden emplearse para el diagnóstico de sepsis/shock séptico, ya que en un 12% de casos emplearíamos tratamiento antibiótico de forma innecesaria.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 086

TEST DE SANGRE OCULTA EN HECES: COMPARACIÓN DE RESULTADOS ENTRE EL PROGRAMA DE SALUD PÚBLICA Y LOS PACIENTES DE NUESTRA ÁREA.

Autor/a/s: MEDIAYLLA PEREZ PAULINA, MOLADA LÓPEZ INMACULADA, PEIRÓ GARCIA JULIO, NARANJO MORILLO EVA.

Centro de trabajo: HOSPITAL DOCTOR PESET

Localidad: VALENCIA

Correo electrónico del primer firmante: pauletamp@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cáncer colorrectal se ha convertido en uno de los tumores con mayor incidencia en la Comunidad Valenciana: es el segundo en frecuencia. Coordinado por Salud Pública de la Conselleria de Sanitat, el programa consiste en la realización del test de sangre oculta en heces y tiene como principal objetivo reducir la mortalidad de este tumor gracias a la detección precoz de pólipos o cáncer en sus fases iniciales entre la población de riesgo: hombres y mujeres entre los 50 y 69 años. Por su parte, el test también se solicita a pacientes con algún tipo de signo/síntoma que pueda orientar hacia el diagnóstico de la enfermedad

OBJETIVO:

Realizar una comparativa entre los resultados de las muestras remitidas por Salud Pública dentro del Programa de prevención del cáncer colorrectal y los pacientes procedentes, tanto de Hospital Universitario Dr. Peset como de los Centros de Atención Primaria de nuestro Departamento de Salud 10 de Valencia. También se revisan diagnósticos emitidos por los médicos peticionarios para estudiar la idoneidad de las solicitudes del test de sangre oculta en heces.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Muestras

Las muestras estudiadas son las realizadas en nuestro hospital durante el año 2014. Se han determinado un total de 10.070 muestras, de las cuales 5.097 pertenecían al Programa de Salud Pública y 4.973 a los pacientes del Departamento.

El grupo poblacional abarcado en el Programa de Salud Pública ha sido los sujetos en edades comprendidas entre 60 y 69 años. Las muestras de heces se recogen en unos tubos colectores especiales que llevan un tampón donde se va a realizar la suspensión.

Método

Las muestras fueron procesadas en el autoanalizador de sobremesa OC-SENSOR (Eiken Chemical Co, LTD), distribuido por Biogen Diagnóstica.

Se trata de un inmunoensayo turbidimétrico con medición cuantitativa de la reacción inmunológica que tiene lugar al unirse la hemoglobina humana (antígeno) contenida en las heces con los anticuerpos monoclonales fijados a partículas de látex frente a la misma. La aparición de turbidez debida a la aglutinación de los complejos antígeno-anticuerpo puede detectarse fotométricamente (a 660 nm), cuya variación se incrementa en proporción a la concentración de hemoglobina en la muestra.

RESULTADOS:

El test fue positivo en: - Programa de Salud Pública = 375 (7.4%).

- Pacientes del Departamento = 686 (13.8%)

Las indicaciones diagnósticas fueron las siguientes:

- Número de personas con Transtornos Metabólicos/Endocrinos = 93 (13,55%)

- Número de personas con Transtornos Digestivos = 187 (27,25%)

- Número de personas con Transtornos Renales = 58 (8,40%)

- Número de personas con Transtornos Oncológicos = 6 (0,87%)

- Número de personas con cáncer colorrectal: 9 (1,31%)

- Número de personas con Anemia = 183 (26,67%)

- Número de personas con Otros diagnósticos = 105 (15,30%)

- No Consta diagnóstico = 45 (6,55%)

CONCLUSIONES:

- El número de positividades del test fue superior en los pacientes, como era de esperar, pero llegó a casi el doble.

Llama la atención que la idoneidad de las peticiones serían los casos de anemia (183) más los cánceres colorrectales (9), suponiendo solo el 30% de todos los pacientes que resultaron positivos (686).

Centro de trabajo: Hospital Infanta Cristina

Localidad: Badajoz

Correo electrónico del primer firmante: carolinasoisa@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El potasio es el catión intracelular más abundante, y su determinación analítica resulta de gran utilidad clínica en numerosos procesos fisiopatológicos, entre ellos las modificaciones de la actividad cardiaca.

El laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Infanta Cristina de Badajoz (HIC) atiende a la población del área de salud de Badajoz (275.477 habitantes). Esta población se divide en varias zonas de atención sanitaria, siendo el área metropolitana de Badajoz la mayoritaria en cuanto a población. Esta área metropolitana a su vez se encuentra subdividida en 8 centros de salud y un área extraurbana (pedanías). Se recibe notificación oficial por parte de la dirección de un centro de salud del área sanitaria de Badajoz del incremento en la realización de electrocardiogramas asociados a niveles de potasio mayores de 5.1 mM. Esta circunstancia es investigada a nivel preanalítico y analítico en el servicio de Análisis Clínicos del Hospital Infanta Cristina donde se han realizado las determinaciones de potasio sérico.

OBJETIVOS:

Estudiar de forma conjunta los datos de control de calidad interno del laboratorio para comprobar la exactitud y la precisión del método analítico utilizado para la determinación de potasio sérico en un periodo de dos meses consecutivos estándar, y estudiar la distribución de los niveles de potasio mayores de 5.1 mM respecto al origen de las peticiones.

MATERIALES Y MÉTODOS:

La medición de potasio en el laboratorio de Análisis Clínicos del HIC se realiza de forma rutinaria junto con los iones sodio y cloro mediante potenciometría indirecta en dos sistemas idénticos Advia 2400 (Siemens Healthcare).

Se obtuvieron del sistema informático de control de los equipos Advia 2400 los valores obtenidos de tres niveles de control de calidad interno durante los dos meses de observación (Liquid Assayed Multiquel 1,2, 3. Bio-Rad). Se calcularon su media, desviación estándar (DS), y coeficiente de variación (CV). De la misma forma, se obtuvieron datos analíticos de los meses de octubre y noviembre de 2014 del SIL respecto a potasio, creatinina y glucosa sérica, así como el índice de hemólisis obtenido mediante determinación espectrofotométrica de hemoglobina libre en suero. Los datos fueron agrupados y estudiados mediante software Excel 2007.

RESULTADOS:

El análisis del control de calidad de iones K⁺ presenta una exactitud y precisión durante los dos meses de observación [DS (0.2-0.8), CV (0.84-1.11)] dentro de los rangos aceptables para la técnica según el instrumento y la metodología. Durante el periodo de estudio se recibieron para su análisis 13237 muestras para la determinación de K, glucosa y creatinina sérica. 251 muestras cumplieron los requisitos siguientes: K>5.1mM, glucosa<110 mg/dl, creatinina<1.2 mg/dl e índice de hemólisis negativo. De ellas, un 2.5% correspondieron al centro de salud del que surgió la reclamación

DISCUSIÓN:

Teniendo en cuenta los resultados expuestos, podemos afirmar que los sistemas automáticos de análisis utilizados para la medición de potasio sérico se encuentran operando en condiciones óptimas a la vista de los controles de calidad internos diarios que se realizan rutinariamente. La distribución geográfica de muestras con K>5.1mM no muestra ningún sesgo respecto al origen peticionario en el área

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 087

RECLAMACIÓN ANALÍTICA DE NIVELES DE POTASIO SÉRICO POR PARTE DE UN CENTRO DE SALUD DEL ÁREA METROPOLITANA DE BADAJOZ.

Autor/a/s: Carolina Soisa López, Miguel Ángel Blanco Gelaz, María del Mar Tully Sánchez y María Inmaculada Ortiz Martín.

metropolitana de Badajoz, existiendo orígenes incluso con porcentajes mas elevados de peticiones con $K > 5.1 \text{ mM}$ y no el centro del que surgió la reclamación.

CONCLUSIONES:

Como conclusión, no es atribuible al laboratorio el aumento en el número de electrocardiogramas debido a niveles de $K > 5.1 \text{ mM}$ sugerido por la dirección de un centro de salud del área metropolitana de Badajoz, habiéndose redactado y enviado al centro de salud que realizó la reclamación una respuesta razonada con los datos anteriormente expuestos.

Por otra parte, abrimos la posibilidad de continuar investigando en procesos preanalíticos el posible origen de los aumentos de potasio sérico informados desde el centro de salud.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 090

UTILIDAD DE LOS MARCADORES TUMORALES EN EL CANCER PROSTÁTICO, OBTENIDOS EN EL LABORATORIO ICS CAMP DE TARRAGONA-TERRES DE L'EBRE.

Autor/a/s: LEZCANO LANZA, NURIA. VADILLO PLANAS. MONICA, ALVAREZ DE DIEGO, AINARA. PIJUAN BARRUFET, GEMMA. VENDRELL RUS, SYLVIA.

Centro de trabajo: LABORATORIO ICS CAMP DE TARRAGONA-TERRES DE L'EBRE. HOSPITAL UNIVERSITARI JOAN XXIII.

Localidad: TARRAGONA

Correo electrónico del primer firmante: nurialez@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cáncer de próstata es uno de los tumores más frecuentes en el sexo masculino.

La realización de un cribado basado en la determinación sérica del antígeno prostático específico (PSA), es el mejor marcador tumoral disponible actualmente, con combinación de un tacto rectal.

Los marcadores para su diagnóstico en nuestro laboratorio son el PSA Total y su fracción libre (PSA Libre). Otras patologías como la hiperplasia benigna de próstata y la prostatitis aguda pueden alterar la PSA Total dando falsos positivos.

La concentración de PSA Libre en relación al PSA Total, es inferior en pacientes con cáncer de próstata que en ausencia de este tumor.

La combinación de resultados de PSA Total entre 3.5 y 10 ng/ml, junto al % de PSA Libre inferiores al 20%, junto a los PSA Total superior a 10 ng/ml, son indicativos de cáncer de próstata.

OBJETIVO:

Analizar los valores obtenidos de PSA Total y evaluar el porcentaje de PSA Libre realizados por grupos de edades.

Obtención de incidencia de cáncer de próstata en nuestra población.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron 16657 sueros durante el año 2014, remitidos al servicio de inmunoquímica de nuestro hospital. Se agrupan por edades en 3 grupos: menor de 49 años, de 50 a 70 años y mayor de 70 años.

A todas las muestras se les realizó el PSA Total.

El PSA Total entre 3.5-10 ng/ml genera PSA Libre. En el PSA Total $> 10 \text{ ng/ml}$, no es necesario medir el PSA Libre. Se midieron en la plataforma Inmulite XPI 2000, que utiliza inmunoensayo quimioluminiscente.

RESULTADOS:

El porcentaje de incidencia en grupo de edades es el siguiente: 0 a 49 años es del 2.50%, de 50 a 70 años es del 10.90% y de más de 70 años es del 19%.

CONCLUSIONES:

A partir de los 50 años se obtiene una alta incidencia de cáncer de próstata similar a la descrita en otros estudios.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 096

DETERMINACIÓN DE ALBÚMINA SÉRICA COMO MARCADOR DE NUTRICIÓN EN URGENCIAS

Autor/a/s: Garcia Tirador Francisco, Serrano Fernandez Maria Inés, Navarro Plaza Ana Flor.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: pacorubiato@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La determinación de albúmina en suero, como detección de pacientes con riesgo de desnutrición, es una técnica que forma parte de un screening analítico simple, pero exacto y preciso.

Aunque no sirve para discriminar la desnutrición aguda, sí que lo es para la crónica, por lo que un paciente con albúmina sérica baja es por definición un paciente desnutrido.

La desnutrición hospitalaria afecta a los pacientes con una prevalencia de entre el 35-55 % de los ingresados. Sobre todo en los de mayor edad (a partir de los 70 años) y procesos de más larga estancia. El no sospechar, ni sobre todo tratar esta desnutrición, contribuye de forma muy negativa en el paciente, pero también sobre el gasto que ocasiona a nuestro sistema sanitario.

Un punto de corte de 3 g/dl tiene un valor predictivo de desnutrición, una vez descartados los posibles falsos positivos.

Al tratarse de una proteína de una vida media larga, no se aconseja la determinación de albúmina sérica en aquellos pacientes a los que se les haya solicitado en un tiempo inferior a 21 días (tiempo que prevalece la proteína en suero).

OBJETIVOS:

Estudio descriptivo sobre el cribado del riesgo o la valoración de la presencia de desnutrición, llevado a cabo en ingresos por urgencias: preferentemente durante las primeras 24-48 horas.

Cuantificación de la concentración de albúmina sérica, como método de diagnóstico de la desnutrición, durante el año 2014 en el laboratorio de urgencias del Hospital Universitario Virgen Macarena.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Pacientes a los que se les solicita desde la puerta de urgencias la determinación de los niveles de albúmina sérica durante el año 2014. Datos obtenidos a través del sistema informático del laboratorio de urgencias.

PRINCIPIO DEL MÉTODO: La determinación de albúmina en el laboratorio de urgencias se realiza en el autoanalizador Cobas 6000. Se trata de una prueba colorimétrica.

A un valor pH de 4,1, la albúmina desarrolla las capacidades catiónicas suficientes para poder unirse al colorante aniónico verde de bromocresol (BCG) a fin de formar un complejo azul verdoso.

pH 4,1

Albúmina + BCG complejo albúmina-BCG

La intensidad del color azul verdoso es directamente proporcional a la concentración de albúmina en la muestra y se mide fotométricamente.

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO: Se ha establecido en el protocolo de actuación como punto de corte de la albúmina: $< \text{o igual a } 3 \text{ g/dl}$ para la discriminación de desnutrición. Según los valores de albúmina obtenidos podemos diferenciar distintos grados de desnutrición: leve (3-3.49), moderada (2.5-2.9) y severa (<2.5).

RESULTADOS:

Se han llevado a cabo 29327 determinaciones de albúmina a pacientes que entran por la puerta de urgencias. De los cuales son:

Son menores de 70 años 21232 (sin desnutrición: 20455 [10515 Hombres y 9940 Mujeres.] / desn. leve: 770 [492 Hombres y 278 Mujeres] / desn. moderada: 5 [1 Hombres y 4 Mujeres] / desn. severa: 2 [1 Hombre y 1 Mujer]).

Son mayores de 70 años 8095 (sin desnutrición: 7318 [3181 Hombres y 4137 Mujeres] / desn. leve: 760 [350 Hombres y 410 Mujeres] / desn. moderada: 8 [2 Hombres y 6 Mujeres] / desn. severa: 9 [7 Hombres y 2 Mujeres]).

CONCLUSIONES:

De los resultados obtenidos con este estudio llevado a cabo en el laboratorio de urgencias del hospital Virgen Macarena podemos concluir que la mayor parte de los casos de desnutrición se dan en personas mayores de 70 años, no obstante los porcentajes son bajos (9.60%).

El mayor porcentaje (9.39%) se da en las desnutriciones leves, incidiendo más en mujeres que en hombres.

Los porcentajes de casos (0.21%) de desnutrición moderada y severa son muy similares, al igual que su incidencia entre sexos.

En las determinaciones llevadas a cabo entre los pacientes menores de 70 años se observa que la desnutrición moderada y severa es mínima, la incidencia es mayor en hombres que mujeres en el caso de la desnutrición moderada e igual incidencia en el caso de la desnutrición severa. Siendo un poco más elevada (9.39 %) la desnutrición leve, con mayor incidencia en hombres que en mujeres.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 100

ESTUDIO DE LA REGRESIÓN LINEAL EN DETERMINACIONES BASALES/3 DIAS POSTERIORES DE VITAMINA B12 Y ACIDO FOLICO

Autor/a/s: Paula Romero Garcia, Fernanda Gea Lopez, Maria Mercedes Fernandez Martinez, Demetria Hernandez Benito, Flora Sierra Puparelli, Juan Carlos Rodriguez Perez, Lourdes Martin Rodriguez.

Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: parogar_12@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Tanto la vitamina B12 como el folato son imprescindibles para una formación normal de los hematíes, para una buena reparación celular y para la síntesis del ADN. La vitamina B12 también es esencial para la salud neuronal, y el folato es necesario para la división celular,

como se ha observado en el feto durante el embarazo. Déficits de folato y de vitamina B12 pueden producir una anemia macrocítica, como la anemia megaloblástica que se caracteriza por una disminución de la producción de hematíes que están aumentados de tamaño. La anemia megaloblástica también puede acompañarse de alteraciones celulares en la médula ósea, disminución de leucocitos y de plaquetas.

OBJETIVO:

El objetivo de nuestro estudio es analizar la asociación lineal entre los resultados de vitamina B12/ácido fólico basales y los resultados en tres días posteriores para comprobar la estabilidad de la muestra que nos indica el fabricante.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos seleccionado para nuestro estudio un total de 30 resultados de vitamina B12 y ácido fólico medidos el mismo día de la extracción en condiciones basales y los resultados de tres días consecutivos.

Las determinaciones se realizaron en el analizador Cobas e602 (Roche Diagnostics)

Las magnitudes biológicas utilizadas en este estudio participaron en programas de control interno y externo de calidad y superaron, en todos los casos, las especificaciones de calidad analítica recomendadas para cada una de ellas.

Para determinar si las medidas son estadísticamente comparables realizamos un análisis de regresión lineal entre variables cuantitativas. El nivel de significación se considerará para una $p < 0.05$. El paquete

estadístico utilizado es el SPSS Statistics 17.0

RESULTADOS:

Las rectas de regresión obtenidas:

Vitamina B12 (1º día) = $9,836 + 1,001 \text{ B12 (basal)}$, IC95% de la ordenada en el origen (-7,461 27,133) e IC95% de la pendiente (0,971 1,032) siendo $r=0,997$ con $p<0,0001$.

Vitamina B12 (2º día) = $3,628 + 0,976 \text{ B12 (basal)}$, IC95% de la ordenada en el origen (-9,203 16,460) e IC95% de la pendiente (0,954 0,999) siendo $r=0,998$ con $p<0,0001$.

Vitamina B12 (3º día) = $2,018 + 0,994 \text{ B12 (basal)}$, IC95% de la ordenada en el origen (-18,999 23,035) e IC95% de la pendiente (0,957 1,031) siendo $r=0,996$ con $p<0,0001$

Ácido fólico (1º día) = $-0,136 + 0,963 \text{ Fólico (basal)}$, IC95% de la ordenada en el origen (-1,125 0,853) e IC95% de la pendiente (0,876 1,050) siendo $r=0,975$ con $p<0,0001$

Ácido Fólico (2º día) = $-0,608 + 0,977 \text{ Fólico (basal)}$, IC95% de la ordenada en el origen (-1,824 0,607) e IC95% de la pendiente (0,890 1,104) siendo $r=0,965$ con $p<0,0001$

Ácido fólico (3º día) = $-0,339 + 0,962 \text{ Fólico (basal)}$, IC95% de la ordenada en el origen (-1,675 0,996) e IC95% de la pendiente (0,844 1,079) siendo $r=0,955$ con $p<0,0001$

CONCLUSIONES:

La ecuación de la recta muestra una buena asociación lineal entre las determinaciones basales y al tercer día sin observar error sistemático (el 0 está incluido en el IC95% de la ordenada) ni error proporcional (el 1 está incluido en el IC95% de la pendiente) por lo que los resultados son transferibles.

Por tanto deducimos que ante un problema técnico podríamos realizar las determinaciones tres días después sin necesidad de congelar el suero.

EL PAPEL DEL LABORATORIO EN EL DIAGNOSTICO DE LAS INSUFICIENCIAS HEPÁTICAS FULMINANTES

Autor/a/s: MONGE CAMACHO M^a DEL PATROCINIO; RIOS RAMOS M^a JOSEFA; VILORIA PEÑAS M^a DEL MAR

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE VALME

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: patrichi16@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El término hepatitis alcohólica define unas alteraciones morfológicas que se asocian con manifestaciones clínicas muy variables y se caracteriza por astenia, anorexia, ictericia, fiebre y hepatomegalia dolorosa. En las formas graves existen signo de malnutrición, ascitis y encefalopatía. En los exámenes de laboratorio destaca aumento de la bilirrubina conjugada, aumento moderado de las transaminasas que no se corresponde con la extensión de la necrosis, con predominio de AST sobre ALT, fosfatasa alcalina y γ -GT elevados, junto con alteraciones en la coagulación.

OBJETIVO:

Evaluar, mediante un caso clínico, el importante papel del laboratorio en el diagnóstico de las hepatitis hepáticas fulminantes.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Paciente del caso clínico: Mujer de 41 años de edad remitida a urgencias por su médico de familia, bebedora de 120g alcohol/día durante dos años y medio, actualmente en tratamiento con Carbimida, presenta ictericia franca de piel y mucosas y hepatomegalia. Las determinaciones analíticas de bioquímica se realizaron mediante fotometría en el COBAS 8000 (Roche Diagnostics). El hemograma se determinó por citometría de flujo en los analizadores Sysmex y los estudios de coagulación en los equipos STA Compact, ambos de Roche Diagnostics. Se realizó un total de cinco peticiones analíticas completas, como control rutinario de primera hora de la mañana durante los cinco días que la paciente permaneció en nuestro hospital.

RESULTADOS:

Se solicita estudio completo que incluye hemograma: plaquetas 6K/ul, ferritina N, a-feto N, ceruloplasmina N, α 1-antitripsina N, cobre N, virus hepatotropos negativos y bioquímica completa, destacando bilirrubina total de 20mg/dl y transaminasas elevadas (AST: 352 U/L; ALT: 221 U/L; ALP: 171 U/L; GGT: 121 U/L); es ingresada en Digestivo, presenta un pico febril de 39.5°C, cuadro convulsivo y ascitis, siendo trasladada a UCI para monitorizarla. Desde su ingreso el cuadro ha sido tormentoso, desarrollando shock toxico, hemorragia pulmonar, coagulopatía de consumo y cuadro de distress respiratorio con el cual se ha mantenido hasta el exitus. La función renal mostro deterioro progresivo, con valores de creatinina mayor de 4 mg/dl (Valores del primer al quinto día: 4,2; 4,5; 4,5; 4,1; 4,8 mg/dl respectivamente) y aclaramiento menor de 10 ml/min, iniciándose sesiones de hemodiafiltración venosa continua, con acidosis metabólica. La función hepática ha permanecido desde el ingreso muy deteriorada (Valores de las enzimas hepáticas desde el segundo al quinto día: AST: 412, 490, 580 y 750 U/L; ALT: 293, 418, 498, 613 U/L; ALP: 193, 298, 315 416 U/L; GGT: 121, 200, 231, 287, 396 U/L), con aumento progresivo de la bilirrubina hasta 70mg/dl (Valores hasta el quinto día de: 34, 59, 63 y 71 mg/dl), tiempo de protrombina menor 18% y trombopenia, habiéndose politransfundido con hemoderivados. En líquido peritoneal se cultivo un E.coli sensible Cefotaxima habiéndose mejorado de la sintomatología séptica, pero reiniciando nuevo episodio de shock aproximadamente 48h antes de su exitus. Se analizaron marcadores

tumorales, no siendo en ningún momento sus valores subjetivos de neoplasia.

CONCLUSIONES:

Destacamos la importancia del laboratorio de Análisis en el diagnóstico clínico de la insuficiencia hepática fulminante.

En este caso es importante conocer los límites de linealidad de alguna de las técnicas, como la bilirrubina, que con un intervalo de medición de 0,1-30mg/dl tuvimos que hacer diluciones para su determinación.

IMPLANTACIÓN DE LA TÉCNICA DE LA CALPROTECTINA FECAL EN NUESTRO SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Autor/a/s: FRANCISCA BORONAT LLORET, MARIA DE LOS REYES GARCÍA SÁNCHEZ, ANA MARÍA POZO PEÑA.

Centro de trabajo: UGC DE ANÁLISIS CLÍNICOS DEL HOSPITAL DE LA LÍNEA.

Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN

Correo electrónico del primer firmante: paquiboronat@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La calprotectina es una prueba no invasiva útil para descartar la presencia de inflamación de

Localización intestinal.

La concentración de calprotectina fecal es elevada en enfermedades inflamatorias intestinales (enfermedades de Crohn y colitis ulcerosas) y en menor medida en otras enfermedades como las neoplasias y los pólipos.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En nuestro laboratorio la realización de esta prueba está en proceso de su implantación. Actualmente son enviadas a un laboratorio de referencia externo (Reference Laboratory).

Próximamente la realizaremos en nuestro servicio con las ventajas que ello conlleva.

La prueba que queremos implantar, se va a realizar en el analizador Inmuno CAP 250 (PHADIA).

OBJETIVOS:

Destacar la utilidad clínica que tiene la determinación de esta prueba para el diagnóstico de enfermedades del colon.

Resultados:

En el año 2014, se enviaron al laboratorio de referencia, un total de 757 muestras, 277 de las cuales fueron positivas.

CONCLUSIONES:

Prueba no invasiva, lo cual es muy positivo para el paciente.

Es una prueba económica, con lo cual abarata los costes al no enviarlas al laboratorio de referencia, siendo un recurso rentable.

Es una prueba fácil de recoger por el paciente.

Buena relación coste-efectividad.

Se disminuye los números de colonoscopias innecesarias con lo cual reducimos los costes sanitarios.

Marcador muy sensible y específico.

Un resultado negativo puede descartar un proceso inflamatorio.

Un resultado positivo nos lleva a la realización de una endoscopia en el tubo digestivo.

ESTUDIO DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA (ECA) EN SANGRE EN NUESTRO LABORATORIO

Autor/a/s: SUSANA COLLANTE SÁNCHEZ, SUSANA DOMÍNGUEZ CORDOBA, MARÍA DEL MAR GARCÍA GONZÁLEZ

Centro de trabajo: UGC DE ANÁLISIS CLÍNICOS DEL HOSPITAL DE LA LÍNEA

Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN

Correo electrónico del primer firmante: paquiboronat@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La enzima convertidora de angiotensina es producida por varios tejidos corporales como el sistema nervioso central, riñones y pulmón. Convierte la angiotensina I en angiotensina II que incrementa la acción vasoconstrictora.

Se solicita esta prueba para diagnosticar y vigilar la sarcoidosis. También nos ayuda a confirmar la enfermedad de Gaucher y la Lepra.

La sarcoidosis es una enfermedad inflamatoria que afecta al sistema inmune. Se cree que tiene un componente genético, además de un componente ambiental.

Se da más en personas de raza blanca y es rara en China, Japón y África.

Su incidencia es de 10/40 personas por 100.000 habitantes.

OBJETIVOS:

Valorar la incidencia de resultados positivos en las muestras analizadas en nuestro laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizan 513 determinaciones de muestra en el analizador AU 5800 de la casa Beckman Coulter durante el año 2014 mediante la técnica de inmunoensayo.

RESULTADOS:

Las determinaciones en hombres fueron 236, de las cuales 116 fueron positivas. En mujeres fueron 277 siendo positivas 130.

CONCLUSIONES:

El porcentaje de muestras positivas es de un 49% en los hombres y un 47% en las mujeres. Vemos que no hay diferencia significativa entre los dos sexos en nuestro estudio.

Observamos un porcentaje elevado de positividad tanto en hombres como mujeres.

Dado el alta porcentaje de positividad es recomendable solicitar a intervalos regulares la determinación de esta prueba para ver la evolución de la enfermedad y la eficacia del tratamiento prescrito.

HELICOBACTER PYLORI

Autor/a/s: FRANCISCA BORONAT LLORET, SUSANA DOMÍNGUEZ CORDOBA, MARÍA DE LOS REYES GARCÍA SÁNCHEZ.

Centro de trabajo: UGC DE ANÁLISIS CLÍNICOS DEL HOSPITAL DE LA LÍNEA

Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN

Correo electrónico del primer firmante: paquiboronat@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El Helicobacter Pylori es una bacteria microaerófila gramnegativa, de lento crecimiento con firme helicoidal con abundantes flagelos.

Su importancia en enfermedades gastrointestinales ha aumentado desde que Marshall y Warren la describieron.

La infección se adquiere en edades tempranas. Desarrolla una respuesta inmunológica que lleva a una inflamación y erosión de la mucosa gástrica que produce úlceras, gastritis crónicas e incluso cáncer gástrico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Utilizamos la prueba inmunocromatográfica (Soria Melguizo) para la detección cualitativa de antígenos de Helicobacter Pylori.

Se precisa una muestra de heces, que debe conservarse refrigerada durante 1-2 días. Para una conservación más larga se debe congelar a -20° C.

OBJETIVOS:

El objetivo de este trabajo es analizar los resultados positivos de esta prueba rápida en el año 2014 en nuestro servicio de análisis clínicos. Resultados:

De un total de 233 muestras analizadas en nuestro servicio fueron positivas 23 y negativas 210. Esto nos da un porcentaje de 10% de muestras positivas.

CONCLUSIONES:

Se trata de una prueba no invasiva.

Prueba fácil de recoger por el paciente.

Posee una gran sensibilidad y especificidad.

SANGRE OCULTA EN HECES. PRUEBA RÁPIDA PARA SU DETECCIÓN

Autor/a/s: MARÍA DE LOS REYES GARCÍA SÁNCHEZ, MARÍA DEL MAR GARCÍA GONZÁLEZ, ANA MARÍA POZO PEÑA.

Centro de trabajo: UGC DE ANÁLISIS CLÍNICOS DEL HOSPITAL DE LA LÍNEA

Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN

Correo electrónico del primer firmante: paquiboronat@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La presencia de sangre en las heces es a menudo una señal o un problema del tubo digestivo.

En la práctica clínica habitualmente la sangre oculta en heces se utiliza para hacer un cribado de cáncer colonrectal u otro problema como úlceras y pólipos.

MÉTODO:

Utilizamos un test rápido inmunocromatográfico (no invasivo de Soria Melguizo) para detectar cualitativamente hemoglobina humana en muestras de heces.

Las muestras de heces deben ser recogidas en un envase limpio y seco (no deben tener conservantes), y entre 2-4° durante 1-2 días. Si la queremos conservar más tiempo debemos congelarla.

OBJETIVO:

Hemos estudiado las muestras recibidas en 6 meses, desde el 1-1-2014 al 1-6-2014.

RESULTADOS:

Recibimos un total de 297 muestras, siendo positivas 19 (6.4%). Estudiando las muestras observamos que en Abril y Mayo se han dado mas casos positivos que en el resto de los meses.

CONCLUSIONES:

Es una técnica simple y segura, no entraña ningún riesgo.
Se trata de una prueba de alta especificidad (>99%).
Posee también una alta sensibilidad.
Es fácil de recoger para el paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 114

HE4 E ÍNDICE ROMA: ¿SON NECESARIOS PARA EL ESTUDIO DE MASAS ANEXIALES?

Autor/a/s: Janeiro Varela, Patricia(1); Rodríguez Murciego, Manuela(1); Alonso Meira, Natalia(1); Villar Losada, Casimira(1); Álvarez Álvarez, María Isabel(1); López Álvarez, María Ignacia(1); Casado Rey, Pedro(2). (1)TSLDC;(2)FEA

Centro de trabajo: EOXI-VIGO (XERAL-CIES)

Localidad: VIGO

Correo electrónico del primer firmante: patricia.janeiro.varela@sergas.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La proteína del epídimo humano (HE4) pertenece a la familia de las WFDG (seroproteínas ácidas nucleares de cuatro enlaces disulfuro) de las que se supone presentan características propias de los inhibidores de la tripsina y es codificada por el gen WFDC2.

El HE4 tiene una baja expresión en los epitelios de los tejidos respiratorios, pancreático y reproductivo normal, mientras que en el cáncer de ovario se evidencian altos niveles de este.

OBJETIVO:

Evaluar la utilidad del marcador tumoral HE4 y del índice ROMA para el estudio de las masas anexiales, y valorar las ventajas de la utilización conjunta con el Ca 125 respecto al uso exclusivo de este último.

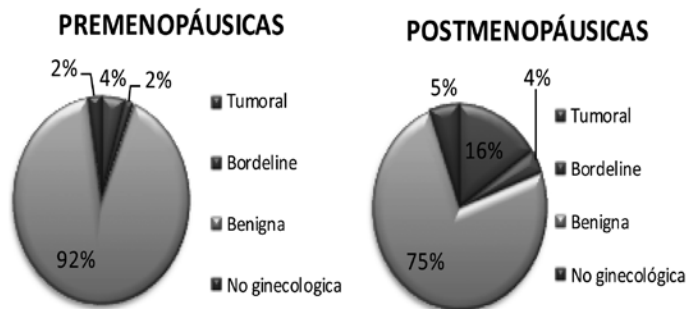
MATERIAL Y MÉTODOS:

Se midieron las concentraciones del HE4 y Ca 125 en muestras de suero de 368 mujeres procedentes en su mayoría del servicio de ginecología de la EOXI de Vigo.

De las 368 mujeres, 257 eran premenopáusicas y 111 postmenopáusicas (Tabla 1). Un 7,61% (28 casos) presentaban patología tumoral anexial, un 2,17% (8 casos) tumor borderline, el 83,7% (308 casos) fueron clasificadas en patologías ginecológicas benignas y el 3,26% restante (12 casos) fueron clasificadas en otras patologías no ginecológicas. Se descartaron el 3,26% (12 casos) por falta de datos.

	Nº pacientes	Edad media
Premenopáusicas	248	40 años
Patología tumoral	11	
Tumor borderline	4	
Patología benigna	227	
No ginecológica	6	
Postmenopáusicas	108	65 años
Patología tumoral	17	
Tumor borderline	4	
Patología benigna	81	
No ginecológica	6	

TABLA 1



Las concentraciones de Ca 125 y HE4 se determinaron mediante un inmunoanálisis electroquimioluminiscente (ECLIA) en el autoanalizador Cobas 8000 (Roche®). Con un punto de corte de 35 U/mL para el Ca125 y mientras que para HE4 se valoraron dos puntos de corte diferentes para premenopáusicas y postmenopáusicas que van asociados a distintos puntos de corte para el índice ROMA:

Punto de corte A :

Premenopáusicas: Para el HE4 90 pmol/L y para el cálculo del algoritmo ROMA se consideró alto riesgo valores superiores 11,4%.

Postmenopáusicas: Para el HE4 125 pmol/L para el cálculo del algoritmo ROMA se consideró alto riesgo valores superiores 29,9%.

Punto de corte B:

Premenopáusicas: Para el HE4 70 pmol/L y para el cálculo del algoritmo ROMA se consideró alto riesgo valores superiores 7,4%.

Postmenopáusicas: Para el HE4 140 pmol/L para el cálculo del algoritmo ROMA se consideró alto riesgo valores superiores 25,3%.

RESULTADOS: Tabla 2.

PUNTO DE CORTE A:

El HE4 presentó un sensibilidad y especificidad global del 50 % y del 94,43%, mientras que para el índice ROMA fue de 77,14%, y 77,81 % respectivamente.

PUNTO DE CORTE B:

El HE4 presentó un sensibilidad y especificidad global del 55.55 % y del 85.14%, mientras que para el índice ROMA fue de 83.33%, y 65.31 % respectivamente.

		Sensibilidad HE4	Especifici- dad HE4	Sensibili- dad índice ROMA	Especifici- dad índice ROMA
Punto de corte A	Preme- nopáusicas	33,33%	93,69%	73,33%	74,68%
	Postme- nopáusicas	61,90%	94,25%	76,19%	86,21%
Punto de corte B	Preme- nopáusicas	55,33%	78,63%	80%	59,23%
	Postme- nopáusicas	57,14%	96,55%	80,95%	81,61%

TABLA 2

Por su parte el Ca 125 mostró una sensibilidad de un 80,50% y una especificidad del 68,73%.

CONCLUSIONES:

La mayor sensibilidad para patología tumoral y borderline se observó en el índice ROMA usando el punto de corte B.

El HE4 mostró la mayor especificidad diagnóstica para patologías ginecológicas benignas.

Con la utilización del punto de corte A se obtuvieron mejores datos de especificidad tanto para el HE4 como para el índice ROMA, mientras que con el punto de corte B obtuvimos una sensibilidad mayor para ambos parámetros. La mayor sensibilidad y especificidad se presentó en el grupo de pacientes postmenopáusicas en donde la incidencia de patología tumoral es mayor.

Los resultados obtenidos en este trabajo siguen la línea de otros estudios publicados, en donde se indica la importancia de la utilización conjunta del HE4 y el Ca 125, así como el cálculo del índice ROMA, para el estudio y seguimiento de masas anexiales.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 115

MUESTREO VENOSO ADRENAL EN EL DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO DEL HIPERALDOSTERONISMO:

Autor/a/s: Álvarez Álvarez, María Isabel(1); Villar Losada, Casimira(1); Rodríguez Murciego, Manuela(1); Alonso Meira, Natalia(1); Janeiro Varela, Patricia(1); López Álvarez, María Ignacia(1); Álvarez García, Elías(2).TSLDC(1); FEA(2)

Centro de trabajo: EOXI-VIGO (XERAL-CIES)

Localidad: VIGO

Correo electrónico del primer firmante: maria.isabel.alvarez.alvarez@sergas.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El hiperaldosteronismo primario (HAP) es la causa más común de hipertensión secundaria. Una vez diagnosticado, es importante diferenciar el subtipo para establecer la terapia adecuada: y evitar errores quirúrgicos, el muestreo venoso adrenal bilateral (MVA) se considera el «gold standard» para diferenciar procesos unilaterales de bilaterales.

OBJETIVO:

Evaluar la efectividad de pruebas de imagen y el test de deambulación (TD), frente al muestreo venoso adrenal bilateral, para el diagnóstico etiológico del HAP.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio retrospectivo en el que se incluyeron 48 pacientes atendidos diagnosticados de hap (33 hombres y 15 mujeres), de edad media 52 años, remitidos para MVA. Todos fueron sometidos a pruebas de imagen (TC o gammagrafía con i-colesterol) y TD (7 se consideraron no válidos).

Calculamos el ratio aldosterona corregido por cortisol entre la vena adrenal y contralateral, antes y después de un estímulo con 250 µg de ACTH.

El MVA consiste en la cateterización de ambas venas suprarrenales para la obtención de muestras de sangre con el fin de medir aldosterona y cortisol antes y después de estímulo con 250 µg de ACTH.

El MVA se considera exitoso si el cociente cortisol vena adrenal/cortisol vena periférica es >2 , ó tras el estímulo de ACTH >5 .

Para corregir el efecto dilucional asimétrico en ambas venas se utiliza el cociente aldosterona/cortisol (A/C). Un cociente (A/C) >4 entre ambas venas adrenales indica lateralización. Si se encuentra entre 3-4 se considera zona gris. Y si el cociente es <3 indica no lateralización.

La concentración de aldosterona se midió mediante un RIA comercial (Coat-A-Count Siemens®). Para la concentración de cortisol se empleó un inmunoanálisis quimioluminiscente competitivo (Immunite 2000 Siemens®).

RESULTADOS:

14 de los 51 MVA realizados (27,4%) se excluyeron del estudio por no cumplir criterios de localización. De los 37 restantes, 22 (59%) resultaron diagnosticados de hiperplasia adrenal bilateral y 15 (41%) de enfermedad unilateral.

Las pruebas de imagen conducirían a un falso diagnóstico de enfermedad bilateral en 2 de los 37 pacientes (5,4%) y clasificaría erróneamente como enfermedad unilateral, y por tanto subsidiarios de indicación quirúrgica, a 14 de los 37 pacientes (38%)

Pese a la elevada frecuencia descrita de incidentalomas adrenales en la población general, en los casos de nuestra serie en los que se objetiva lateralización tanto en el MVA como con pruebas de imagen (13 pacientes) no se ha encontrado discrepancia en cuanto al lado secretor.

Se descartaron de los test de deambulación de 7 pacientes por inadecuado comportamiento de la concentración de cortisol. De los 30 restantes, 9 (30%) serían incorrectamente diagnosticados de enfermedad unilateral y 3 (10%) indicarían una falsa hiperproducción bilateral.

CONCLUSIONES:

Las pruebas de imagen fallaron en el diagnóstico etiológico en el 43% (16) y el test de deambulación en el 40% (12) de los pacientes.



El muestreo venoso adrenal bilateral es una técnica relativamente sencilla y, pese a que no está disponible en muchos centros hospitalarios, es imprescindible para evitar errores diagnósticos, en ocasiones irreparables.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 120

ESTUDIO DE CORRELACION DE DOS METODOS ANALITICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SANGRE OCULTA EN HECES

Autor/a/s: Catalina Nieto Segura, Hortensia Felices Bernal, Encarnación Gonzalez Maturana

Centro de trabajo: C. H. Torrecardenas

Localidad: Almería

Correo electrónico del primer firmante: nieto-71@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La presencia de hemoglobina en heces es indicativa de algunas patologías relacionadas con el tracto digestivo aunque no necesariamente indica sangrado colorectal y como cualquier prueba diagnóstica, todos los resultados deben ser considerados con otras informaciones clínicas por el médico.

La determinación de sangre oculta en heces, realizada por cualquiera de los dos métodos, no representa el gold estándar en el diagnóstico de la enfermedades del tracto digestivo, en cualquier caso se recomienda la prueba de la colonoscopia como ensayo definitivo para el diagnóstico.

NIVELES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN LIQUIDO SINOVIAL:CONTRIBUCION AL DIAGNOSTICO DEL DERRAME ARTICULAR

Autor/a/s: Pilar Guillen Esteban, Diana Perez Torrella, Patricia Pulido Gomez, Mirian Rebollo

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO -MOSTOLES

Localidad: MOSTOLES

Correo electrónico del primer firmante: brevas2@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En la actualidad el estudio del líquido sinovial es una herramienta que permite establecer el diagnóstico de artropatías por cristales, apoya el diagnóstico de las artritis sépticas y ayuda a establecer otros diagnósticos reumatológicos como la monoartritis o los derrames articulares.

El estudio completo del líquido sinovial debe constar de un análisis macroscópico (color, viscosidad), microscópico (recuento y morfología celular), bioquímico (glucosa, proteínas totales) y examen de microcristales.

La Proteína C Reactiva es un reactante de fase aguda que se sintetiza principalmente en los hepatocitos en respuesta al estímulo de la IL-6 favorecido por la IL-1. Su papel es fundamentalmente defensivo, a través de su interacción con la fosfocolina de muchos microorganismos y células apoptóticas o necróticas, favoreciendo su eliminación.

Objetivo: Últimamente se está valorando la utilidad de la PCR en el diagnóstico de la infección de prótesis; el motivo del presente estudio fue valorar si también podría ser de ayuda en el diagnóstico de otras patologías articulares. De esta forma buscamos establecer el punto de corte de la Proteína C Reactiva en el líquido sinovial permitiendo discriminar los procesos inflamatorios de los no inflamatorios, y establecer la correlación entre los valores de PCR y alguna variable clínica o de laboratorio relevante.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos estudiado 32 pacientes sometidos a artrocentesis en nuestro centro hospitalario,

Durante el periodo comprendido entre Marzo de 2013 y Enero de 2014 en turno de mañana. El líquido sinovial de todos los pacientes se analizó en el Laboratorio de Urgencias de nuestro Hospital. Se realizó recuento manual de ambas series y recuento porcentual de leucocitos si la cifra de los mismos superaba 100/mm³. Se cuantificaron los niveles de glucosa, proteínas totales y PCR en un analizador Cobas 6000 Roche. Realizamos un estudio estadístico a través del programa SPSS 15.0 para establecer el punto de corte mediante curva ROC. El diagnóstico final se estableció basándonos en los datos obtenidos de la historia clínica.

RESULTADOS:

Se han observado valores más elevados de PCR en los procesos inflamatorios. Se estudió la curva ROC de todos los parámetros analizados, siendo en PCR (AUC= 0,845), leucocitos (AUC= 0,848) y polinucleados (AUC= 0,851) en los que existe una buena capacidad discriminativa entre procesos inflamatorios y no inflamatorios. El punto de corte óptimo de la PCR por curva ROC fue de 4 mg/L presentando una sensibilidad de 80% y especificidad de 83%. A partir de 10 mg/L la determinación de PCR en el líquido articular es 100% específica de un proceso inflamatorio. El punto de corte óptimo de los leucocitos por curva ROC fue de 420 leucocitos/mm³, con una sensibilidad del

Ambos métodos requieren para la toma de muestras preparación sencilla y similar, no son interferidos por otro tipo de hemoglobinas, la poca homogeneidad interfiere de igual forma en ambos métodos.

Analizamos hemoglobina humana en heces por dos métodos in vitro:

Método Manual: Innovacon FOB

Método Automatizado: Clonatest i-FOR Turbidimetric

OBJETIVOS:

Valoraremos la concordancia de resultados en ambos métodos para un total de 71 muestras, de forma descriptiva.

MATERIAL/MÉTODOS

Las muestras han sido seleccionadas al azar por orden de llegada al laboratorio, un total de 71 muestra, sin tener en cuenta procedencia y datos demográficos. Se han trabajado en paralelo.

MÉTODOS:

El Innovacon FAB, es una prueba Inmuno ensayo cromatográfico, que necesita tiras con partículas anti-hemoglobina en sus membranas, tubos colectores de espécimen con buffer de extracción y un cronometro. Utiliza un ensayo en sándwich doble de anticuerpo, es un inmuno ensayo de flujo lateral cualitativo donde la membrana e precubierta con un anticuerpo anti-hemoglobina, el espécimen si es positivo reaccionara con las partículas que contienen el anticuerpo y migran hacia arriba cromatográficamente para reaccionar con el anticuerpo de la prueba y generar una línea coloreada. Detección a partir de 50 ng/ml ó 6mđ/g heces.

El Clonatest i-FOR Turbidimetric, es una prueba Inmunoturbidimetrica cuantitativa que requiere un kit de recolección de muestras, reactivos: R1: Diluyente Y R2: Partículas de látex, controles, calibradores y analizador KROMA. Este método contiene partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos anti-hemoglobina humana que aglutinaran si las muestras de heces contienen hemoglobina (sangre). La aglutinación es proporcional a la concentración de hemoglobina de la muestra, se mide por turbidimetría. Detección a partir de 50 ng/ml heces.

RESULTADOS:

El 23% de las muestras son de origen hospitalario de las cuales el 55.5% son de C.E. trasplante renal, y el 77% son muestras de atención primaria. El 38% son hombres y el 62% de mujeres. En cuanto a edad el 59% de los pacientes es mayor de 50 (rango de edad 11-89 años)

Innovacon FAB, hay 62 resultados negativos y 9 positivos y según el segundo método, Clonatest i-FOR Turbidimetric, los resultados son de 67 negativos y 4 positivos, lo que arroja un índice concordancia, Kappa, observado de 0.8732

frente al esperado de 0.8312, lo que indica que ambos métodos son equiparables.

CONCLUSIONES:

1-La introducción en el laboratorio del método automatizado no supone una merma diagnostica ya que el índice Kappa indica que son similares.

2- Consideramos que el método automatizado supone una clara ventaja en la ejecución técnica teniendo en cuenta:

- que facilita el flujo de trabajo,
- que evita la posible contaminación de las muestras al no tener que ser manipuladas,
- y que facilita la prevención del riesgo laboral del personal

100% y una especificidad del 73,3%. En cuanto a la correlación estadística con otros parámetros, se observó una débil correlación de los niveles de PCR con la cifra total de leucocitos ($r=0.39$)

Conclusiones: Los niveles de PCR pueden ofrecer información sobre la etiología del derrame articular, siendo también de utilidad los leucocitos y polinucleados. Son necesarios más estudios y de mayor tamaño muestral para llegar a conclusiones más definitivas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 126

ESTUDIO COMPARATIVO Y DE PRACTICABILIDAD DE DOS MÉTODOS, NEFELOMÉTRICO Y TURBIDIMÉTRICO, EN LA DETERMINACIÓN DE CADENAS LIGERAS LIBRES EN SUERO

Autor/a/s: Manuela Gómez Martín, M^a Angustias Vizcaya Horno, Ana M^a Ortega de Francisco, M^a del Pilar Gutiérrez Ramos, Ana M^a Barbé Crespo.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DOCE DE OCTUBRE

Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: manuelagm2218@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Nefelómetros y turbidímetros tienen niveles de precisión y sensibilidad similares pero existen diferencias a la hora de manipular la muestra, limpiar las cubetas de reacción, identificar el exceso de antígeno, etc.

La incorporación de la determinación de cadenas ligeras libres (CLL) en suero y del cociente kappa/lambda libre es un método sensible y específico en la detección de patologías como la gammopatía monoclonal.

OBJETIVO:

En el presente trabajo, comparamos la medida de las CLL con el reactivo Freelite® (Bindsite) utilizando el método inmunonefelométrico realizado en el sistema BN II de Siemens versus el método inmuno-turbidimétrico realizado en el sistema SPA PLUS de Bindsite, con el fin de conocer la interrelación de los resultados de medida para las CCL y el índice kappa/lambda libres así como la practicabilidad del manejo de los equipos.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se seleccionaron 59 muestras de pacientes con valores de Kappa y Lambda libre comprendidos entre 1.4 y 192 mg/dL, y 1.44 y 167 mg/dL respectivamente.

La comparación se llevó a cabo mediante el análisis de las diferencias (Bland-Altman) y la regresión lineal (Passing-Bablok) con el paquete estadístico CBstat5. Además se realizó un análisis cualitativo no paramétrico en la comparación del índice Kappa/Lambda

RESULTADOS:

En el análisis cualitativo del índice se consideró el rango de normalidad para pacientes sin insuficiencia renal: 0.26-1.65, valores <0.26 y >1.65 se consideran patológicos.

Comparación de métodos (Passing-Bablok)

Índice kappa/lambda libres: SPA plus= 1.078 (IC 95%:0.953, 1.170), BN II+ 0.139 (IC95%: 0.047, 0.253); $r=0.917$ ($p<0.001$)

Las tasas de concordancia obtenidas fueron: 52/59 índices normales o patológicos por ambos métodos y 7/59 índices discrepantes.

La velocidad media de procesamiento de BN II fue de 10 muestras/hora y se necesitó un volumen de 500uL

La velocidad media de procesamiento de SPA Plus fue de 30 muestras/hora y se necesitó un volumen de 300uL

CONCLUSIONES:

Tras el análisis de datos se concluye que tanto en la kappa libre como en el índice kappa/lambda libres no hay error sistemático proporcional; en lambda libre se detecta error sistemático tanto proporcional como constante. Estas diferencias pueden deberse a la distinta tecnología (nefelometría vs turbidimetría),

Desde el punto de vista práctico el SPA Plus resultó superior al BN II por su mayor velocidad de procesamiento y menor necesidad de volumen de muestra.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 129

INTERFERENCIAS POR USO DE CONTRASTE IODADO EN EL PROTEINOGRAMA.

Autor/a/s: Rocío Pérez Reyes, Raquel Pulido Fernandez, Roberto Mora Corcovado, Ana Rejas Muslera, Ignacio Arriaga Boyarizo

Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: rocitecnilab@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El mieloma múltiple se caracteriza por una proliferación clonal de células plasmáticas que producen un componente monoclonal detectable en suero y orina. Todo paciente con mieloma múltiple debe disponer de un estudio proteico completo que incluya las proteínas totales, electroforesis sérica (proteínograma), proteinuria de 24 horas y proteinograma en orina para cuantificar el componente monoclonal en suero y orina. La inmunofijación es el método estándar para confirmar la presencia de una proteína monoclonal y el isotipo de cadena pesada y ligera. La determinación de las cadenas ligeras en suero puede usarse conjuntamente con el proteinograma y la inmunofijación sérica como screening de una gammopatía monoclonal.

También es necesario la realización de aspirado medular para conocer el grado de infiltración plasmocelular, un estudio citogenético que proporciona una importante información pronóstica, citometría de flujo muy útil para el seguimiento de enfermedad mínima residual y una seriada esquelética que es la prueba estándar para el estudio de la enfermedad ósea.

Estudios adicionales de imagen como Tomografía Axial Computerizada y/o Resonancia Magnética únicamente deben realizarse si están clínicamente indicados para descartar la presencia de plasmocitomas.

OBJETIVOS:

Describir la actuación del laboratorio con la aplicación de un protocolo de trabajo ante la aparición de una banda monoclonal insospechada en dos pacientes tras el uso de contrastes iodados

MATERIAL Y MÉTODOS:

Las técnicas utilizadas para el análisis de las muestras fueron electroforesis capilar mediante el sistema Capillarys de Sebia, e inmu-

no fijación con el equipo Hydrasys de Sebia para identificar la presencia de un pico en el proteinograma como consecuencia de alguna interferencia.

Posteriormente se comprobó que a ambos pacientes se les había suministrado por vía intravenosa, el mismo día de la extracción, un contraste yodado para la realización de una tomografía axial computerizada torácica. El contraste yodado utilizado era Iopamiro 300 120 ml en solución inyectable administrada por vía intraarterial o intravenosa. Cada mililitro de Iopamiro 300 contiene 612 mg de Iopamidol.

RESULTADOS:

Se describen dos pacientes a los que se les realiza una extracción de sangre para una analítica programada que incluye la determinación del proteinograma. En ambos casos, justo antes de la extracción, se realizó una tomografía axial computerizada de tórax con contraste yodado. En el proteinograma se observa un pico monoclonal en la fracción beta 1. La inmunofijación de ambos sueros no confirma la presencia del pico, por lo que se sospecha la existencia de una interferencia por el contraste yodado. Posteriormente, se solicita una nueva extracción a ambos pacientes para repetir el proteinograma y en ambos casos se observa la desaparición del pico obteniéndose un perfil electroforético totalmente normal.

Los dos pacientes de 40 y 86 años presentan una sospecha de componente monoclonal al realizar la electroforesis capilar del suero. Posteriormente, siguiendo el protocolo establecido, se realiza una inmunofijación del suero de las pacientes que revela la no existencia de una banda correspondiente a proteína monoclonal en la zona donde aparecía el pico. Consultado el caso con los clínicos se demuestra que la muestra de sangre analizada ha sido extraída después de la realización de una tomografía axial computerizada de tórax con el uso de contraste yodado, lo cual hace sospechar que la aparición del pico puede ser el resultado de una interferencia por el agente yodado utilizado. Para confirmar que la interferencia hallada en la electroforesis capilar es el resultado del Iopamidol se solicita una nueva extracción a los pacientes, realizándose esta 5 y 14 días después de la inicial, respectivamente. Al realizar el proteinograma a esta segunda muestra se evidencia la desaparición del pico en la fracción beta 1, obteniéndose un proteinograma totalmente normal.

CONCLUSIONES:

Existen diversos estudios que demuestran la aparición de interferencias tras la administración de contrastes yodados en muestras sometidas a electroforesis. Hasta ahora, la mayoría de los artículos han descrito casos en los que la interferencia se localizaba en la fracción beta 2. En cuanto al tiempo necesario que se debería dejar entre la administración del contraste y la extracción de la muestra debería ser entre 2 y 6 días. En el caso de pacientes con una función renal alterada, la interferencia persistiría durante un período de tiempo más prolongado en función del grado de deterioro renal, ya que el contraste permanecería más tiempo en circulación antes de su eliminación.

Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz
Localidad: Madrid
Correo electrónico del primer firmante: raketvoru@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El laboratorio CORE, perteneciente al Servicio de Análisis Clínicos del hospital universitario La Paz, se ha sometido en el año 2014 a un completo cambio tecnológico incorporando sistemas de automatización total que permiten unificar actividades de distintas disciplinas de laboratorio (hematología, bioquímica) e integrar procesos de las fases preanalítica, analítica y postanalítica.

La implantación de esta tecnología en los laboratorios de análisis clínicos posibilita la realización de un mayor número de pruebas diagnósticas, con una mejora directa de la atención al paciente basada en la reducción del tiempo de obtención de resultados analíticos, en un mayor potencial de desarrollo tecnológico y en una reducción del gasto en recursos materiales. El trabajo multidisciplinar es clave para la correcta consecución de objetivos durante la complicada implantación de estos sistemas de automatización. La fase de implantación es crítica para mantener la continuidad asistencial de manera adecuada, garantizando la calidad de los resultados.

OBJETIVOS:

Describir la importancia de la figura del Técnico especialista de laboratorio (TEL) en el proceso de implantación de un laboratorio automatizado de alto volumen en un hospital de alta complejidad.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Durante el proceso de implantación del nuevo laboratorio, se llevaron a cabo tareas previas con la participación activa de los TEL:

- Se realizó una validación de todos los métodos y técnicas utilizados mediante la comparación con los analizadores existentes, así como de la precisión y exactitud de los mismos. Para ello se utilizaron protocolos internacionales (CLSI) EPO5/09
- Se colaboró en el diseño de los sistemas de información: la adaptación del sistema informático al nuevo laboratorio, la creación de una estrategia de identificación de muestras, la configuración y conexión del middleware así como la interconexión con otros sistemas de información.
- Se estableció una estrategia de formación del personal por etapas. Se realizaron cursos iniciales de formación impartidos por especialistas mediante los que se favorece una transmisión horizontal entre técnicos. Una vez afianzados los conocimientos se posibilitó la rotación entre distintos analizadores de la cadena, aumentando la polivalencia de manera secuencial.

RESULTADOS:

La validación de los métodos y técnicas debe ser un requisito indispensable que permite determinar si los resultados obtenidos con los nuevos sistemas son intercambiables con los anteriores o si se debe indicar alguna anotación a tener en cuenta para la valoración clínica del paciente. Para llevar a cabo esta tarea, previa a la puesta en marcha de la instalación, dos TEL participaron a tiempo completo en la misma en colaboración con los facultativos durante los dos meses previos al inicio de la actividad. Se analizaron un total de 110 técnicas, de las cuales, en 7 se efectúa un cambio de la metodología preseleccionada basándose en los resultados de la validación y en 24 de estas técnicas se observó una falta de comparabilidad con el método en uso que motivó el informe al clínico del cambio de rangos de referencia de las mismas.

El correcto diseño, los circuitos y sistemas de información, contribuye a una mejora en la prestación del servicio con una disminución del número de errores en el proceso (manipulación de la muestra,

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 131

IMPLICACIÓN DEL TÉCNICO DE LABORATORIO EN LA IMPLANTACIÓN DE UN SISTEMA DE AUTOMATIZACIÓN TOTAL (LABORATORIO CORE) EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

Autor/a/s: Raquel Pulido Fernandez, Rocío Pérez Reyes, Antonio Buño Soto, Jesus Torrado Garcia, Yolanda Sevilla Ramirez, Rubén Gómez Rioja.

etiquetado&), mejorando la trazabilidad y el tiempo de respuesta, y favoreciendo la priorización de muestras urgentes. Una vez diseñadas las pruebas en cada sistema, se identifican varias tareas. Se validó la estrategia de sufijos en los códigos de barra para identificar muestras en la cadena. Se diseñó un sistema de creación de alícuotas. Se verificó la conexión de sistemas informáticos para solicitud y envío de los resultados.

Se estableció una estrategia de formación que implicó a los TEL del equipo de implantación en la formación del resto de técnicos, favoreciendo un mejor uso de los recursos humanos y una mayor motivación del personal (menos tareas repetitivas y procesos manuales frustrantes, desarrollo en áreas específicas), la posibilidad de asumir más cargas de trabajo (crecer en tamaño y en cartera), una fácil adaptación a picos de trabajo, así como permitir el desarrollo de capacidades de investigación.

CONCLUSIONES:

La participación de los TEL en el proceso de implantación de un sistema de automatización en laboratorios es fundamental. Esta debe tener lugar desde las etapas iniciales. Además, favorecer su implicación en el proceso tanto en el diseño como en la evaluación de métodos o en tareas formativas, contribuye a una mejora considerable en la calidad de los servicios prestados al paciente. Como ventaja añadida, creemos que también se mejora la autoestima del personal técnico, así como la seguridad y calidad de su trabajo.

La participación de los TEL en equipos multidisciplinares es fundamental en proyectos de implantación de sistemas de automatización total del laboratorio. Esta debe ocurrir a lo largo de todas las fases no limitándose exclusivamente a la puesta en marcha.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 135

ANTICUERPOS FRENTE AL PEPTIDO CICLICO CITRULINADO (ANTI-CCP) EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

Autor/a/s: Gil Reyes María Mercedes, Mendoza Quintana María Mercedes, Amador Rodríguez María Elena, Peña López Ana María, García Macías Rosa Delia, Ceballos Pérez Irene Margarita

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrin

Localidad: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: mmgr43@msn.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los anticuerpos frente al péptido cíclico citrulinado (anti-CCP) son marcadores serológicos de artritis reumatoide (AR) con interés en los pacientes con AR seronegativa aunque se pueden encontrar en un 2-5% de pacientes con otras enfermedades autoinmunes (EAI). Existe una asociación de este marcador con el factor reumatoide (FR), y es un buen parámetro para diferenciar la AR de otras EAI que cursan con artritis con FR positivo, como es el caso del LES.

OBJETIVOS:

Valorar el comportamiento del anti-CCP en los pacientes con LES comparativamente con el FR.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se han estudiado 80 pacientes, 40 de ellos con LES y 40 con AR, clínicamente diagnosticados según los criterios de la ARA. Se han determinado los anti-CCP mediante un método ELISA automatizado

y el FR por turbidimetría. Se ha realizado el estudio estadístico de la Chi-cuadrado y de la concordancia, mediante el índice de kappa en el programa MedCalc con un intervalo de confianza del 95%. El porcentaje de concordancia fue evaluado mediante el índice de kappa (K) y su error estándar (EE). El valor de K puede ser interpretado como <0.20, pobre concordancia, 0.21-0.40 débil, 0.41-0.60 moderada, 0.61-0.80 como buena y 0.81-1.00 como muy buena concordancia entre los dos parámetros analizados (CCP y FR).

RESULTADOS:

En los pacientes con LES encontramos una frecuencia de anti-CCP positivos del 2.5 %, frente a un 43% de positivos en la AR, con diferencias significativas (2.5% vs. 43%; $p < 0.001$), mientras que la proporción de positivos para el FR en el LES fue de un 12.5% y del 87% en la AR.

Encontramos diferencias significativas entre el porcentaje de positividad de los anti-CCP y FR en la AR (43% vs. 87%; $p < 0.001$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el porcentaje de positivos de los anti-CCP y FR en el LES (2.5% vs. 12.5%; n.s.) Sin embargo, estos dos parámetros presentaron en el LES una pobre concordancia (Kappa=0.30, EE=0.115).

El anti-CCP presenta una baja SE (2.5%) y ES (43%) en los pacientes con LES y el FR presenta baja SE (12.5%) y una buena ES (87%) para este grupo de pacientes con LES.

CONCLUSIONES:

La frecuencia de los anticuerpos anti-CCP en los pacientes con LES de nuestro estudio es similar a la descrita en la bibliografía.

Hemos encontrado una pobre concordancia entre los anticuerpos anti-CCP y el FR en los pacientes con LES

La determinación de los anticuerpos anti-CCP presenta una mejor sensibilidad en los pacientes con AR que en los pacientes con LES, por lo que no parece que presente utilidad en el estudio de los pacientes con LES y artritis.

Por tanto, aunque la determinación de anti-CCP resulta de utilidad en el diagnóstico de los pacientes con AR, no tiene utilidad diagnóstica en el estudio de los pacientes con LES.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 136

IMPORTANCIA DE LA DETERMINACIÓN DE 25-OH VITAMINA D3 EN PACIENTES CON HIV

Autor/a/s: Montesdeoca Quintana Elisa del Carmen, Rodríguez Pulido Benito, Ramos Peña María Cruz, Suárez Monzón Rosa Delia, Bartolomé Duran Carmen, Pérez Peréz Yolanda del Pino

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrin

Localidad: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: emqeli@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Actualmente se recomienda la medición de 25- hidroxicolecalciferol (25 -OH vitamina D3) en todos los pacientes con infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), ya que la hipovitaminosis D presenta una alta prevalencia en estos pacientes.

OBJETIVOS:

Conocer la prevalencia de hipovitaminosis D en pacientes con inmunodeficiencia adquirida de nuestra área de salud.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Estudio descriptivo transversal en el que se incluyeron 887 pacientes diagnosticados de inmunodeficiencia adquirida por VIH de la Unidad de Infecciosos de nuestro hospital, a los que se les solicitó la determinación en sangre de 25 OH vitamina D3 durante el período 2013-2014. La determinación se realizó por un método inmunoquimioluminiscente en un equipo Architect i2000SR de Abbott Laboratories. El análisis estadístico de los datos se realizó con utilizando el paquete estadístico de Microsoft Excel. Se consideró deficiencia de 25 OH vitamina D3 a cifras inferiores a 20 ng/mL, insuficiencia a los valores comprendidos entre 20 y 29 ng/mL, y niveles suficientes a los superiores a 30 ng/mL, siguiendo las directrices de la European AIDS Clinical Society.

RESULTADOS:

De los 887 pacientes a los que se les solicitó la determinación de 25 OH vitamina D3 durante el período 2013-2014, se encontró que 162 pacientes (18,26 %) tenían deficiencia de 25 OH vitamina D3; 216 pacientes (24,35%) presentaban cifras de insuficiencia y 508 pacientes (57,37%) presentaron concentraciones de 25 OH vitamina D3 en rango de suficiencia.

CONCLUSIONES:

La elevada prevalencia encontrada de deficiencia e insuficiencia de 25 OH vitamina D3 en pacientes con infección por virus de la inmunodeficiencia humana en nuestro medio es similar a la descrita en otros estudios, por lo que se considera necesario conocer los niveles de 25 OH vitamina D3 en este tipo de pacientes.

OBJETIVOS:

El objetivo del presente trabajo es fue comparar los resultados obtenidos para las concentraciones de calprotectina mediante el método ELISA monotest, con respecto a los obtenidos en un método ELISA en placa (Calprest®, Eurospital) realizado en laboratorio externo y considerándolo como método de referencia.

MÉTODOS:

El ensayo evaluado fue el sistema Alegría (Orgentex®- Palex medical) con un rango de medición de 15-1000 μ g/g. Se analizaron 40 muestras de heces procedentes de pacientes con sospecha de enfermedad inflamatoria intestinal, mediante los dos métodos. El punto de corte aplicado fue de 50 μ g/g: considerando como resultados patológicos los (>50 μ g/g). Se calcularon los datos de sensibilidad (SE), especificidad (ES) y eficacia (EF). Así mismo, se calculó el índice de concordancia Kappa mediante el programa estadístico MedCalc (MedCalc Software, Acaciaaan 22, Bélgica).

RESULTADOS:

La sensibilidad (SE), especificidad (ES) y eficacia (EF) que se obtuvo fue: SE= 100%, ES= 92.3% y EF= 95.2%. El índice de concordancia Kappa obtenidos fue $K\hat{o}$ = 0.901 (IC95%: 0.714 - 1.000) con una fuerza de concordancia excelente para ambos métodos.

CONCLUSIONES:

El estudio comparativo demostró que el método ELISA monotest de Alegría muestran una buena sensibilidad y especificidad, así como una excelente concordancia con el método ELISA en placa Calprest® de Eurospital.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 137

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CALPROTECTINA FECAL

Autor/a/s: Ramos Peña María Cruz, Bolaños Hernández María Asunta, Rodríguez Pérez Francisca Cristina, Rodríguez Pulido Benito, Ortiz Pérez María Dolores, Santana Ajeno Rosa Delia.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrin

Localidad: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: may.ram@hotmail.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La calprotectina es una proteína de la familia de las S100 capaz de fijar calcio y zinc y que posee propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Representa el 60% de las proteínas del citoplasma de polimorfonucleares neutrófilos, además de poderla encontrar en monocitos y macrófagos. Se encuentra ampliamente distribuida por todo el organismo y de forma abundante, con una concentración fecal 6 veces superior a la plasmática. Sus niveles se encuentran elevados en pacientes con diversos procesos inflamatorios intestinales. Su empleo está justificado principalmente como marcador de Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

La medida de la calprotectina ayuda en el screening del Cáncer Colorrectal reduciendo el número de colonoscopias, gammagrafías con leucocitos marcados o biopsias histológicas solicitadas: técnicas invasivas, caras y limitadas. Además permite el seguimiento de la monitorización terapéutica y predicción de recaídas en pacientes refractarios.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 138

UTILIDAD CLÍNICA DEL ÍNDICE ICTÉRICO EN EL LABORATORIO DE URGENCIA

Autor/a/s: Ramos Peña María Cruz, Rodríguez Martel Dolores, Molina Gil María Magnolia, Santana Armas Carmen Del Pilar, González Lorenzo Vicente Manuel, Robaina Sosa Clara Isabel.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrin

Localidad: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: may.ram@hotmail.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En nuestro laboratorio la determinación de bilirrubina total (BiT), que es el pigmento biliar de color amarillo anaranjado que resulta de la degradación de la hemoglobina, no se realiza como parámetro de urgencias, pero a todas las muestras procesadas se les realiza la determinación de los índices séricos (hemólisis (IndH), ictericia (Ind I), lipemia (IndL)). El índice ictericia nos indica la riqueza del suero en pigmentos biliares.

OBJETIVOS:

Comparar la BiT frente al IndI en nuestros pacientes, para ver si aporta la información suficiente para evitar la introducción del parámetro BiT en la petición de urgencias.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se determinaron la BiT y el IndI en 65503 muestras de suero de los pacientes de la sección de bioquímica de rutina durante el año 2014 en los analizadores cobas c4702 del Cobas 8000 (Sistemas Roche/Hitachi).

Se utilizó un test colorimétrico cuantitativo para la determinación de BilT y un test cualitativo que informa sobre el color amarillo del suero para la determinación del Indl.

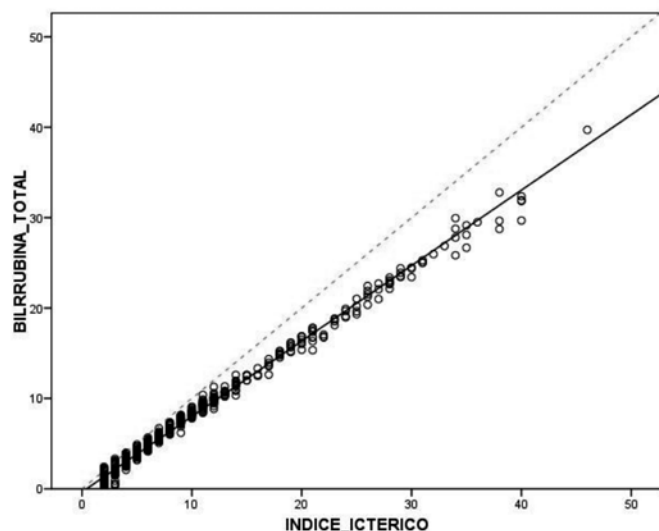
Se procesaron los datos con el programa informático SPSSv 15.0.

RESULTADOS:

Consideramos como valores de normalidad un Indl entre 0 - d" 2 y valores patológicos si Indl e"2.

-Aquellos pacientes con Indl de 0 - d"1 (7,119 muestras) tienen un 99% de probabilidad de presentar un valor de BilT entre 0.11 0.41.

-Los pacientes con Indl de 1 - d"2 (53,374muestras) tienen un 99% de probabilidad de presentar un valor de BilT entre 0.20 1.04.



CONCLUSIONES:

Consideramos adecuada la utilización del Indl en nuestro laboratorio de urgencias, como parámetro orientativo para ayudar a los clínicos en el diagnóstico del paciente, teniendo presente que el Indl es una determinación cualitativa y nunca cuantitativa como la BilT, por tanto nunca podría sustituir a la BilT como parámetro clínico de confirmación

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 139

REVISIÓN DE LA DEMANDA ANALÍTICA DE LA PROCALCITONINA (PCT).

Autor/a/s: Amador Rodríguez María Elena, Rodríguez del Rosario Marcos José, García Ramírez María del Pino, Molina Mendoza María del Carmen, García Rodríguez Minerva del Pino, Falcon Ramos María Isabel.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrín

Localidad: Las Palmas

Correo electrónico del primer firmante: mamarod@gobiernodecanarias.org

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La procalcitonina (PCT) es una prohormona formada por 116 aminoácidos con un peso molecular de aproximadamente 12.7 kilodaltons. Es expresada por las células neuroendocrinas (células C en los tejidos tiroide, pulmonar y pancreático) y se desdobra enzimáticamente de forma sucesiva a calcitonina, catacalcina y a una región N-terminal. La determinación de la PCT está especialmente indicada en el diagnóstico de infección bacteriana sistémica en pacientes con respuesta

inflamatoria alterada, no es útil en la monitorización de infecciones víricas ni de enfermedades inflamatorias crónicas.

Por todo ello la PCT no sería adecuada su determinación en pacientes no hospitalizados ya que estos no sufren las patologías anteriormente citadas.

OBJETIVOS:

Revisión de las peticiones de PCT por parte del facultativo responsable de área de pacientes hospitalizados y no hospitalizados, durante el periodo de enero a abril del 2014 y evaluación de costes que suponen estas determinaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Las determinaciones de PCT se realizaron en el módulo E del Cobas 6000 (Roche Diagnostic) los valores de referencia son 0-0.5 ng/mL

Se utilizaron para analizar los datos la base de laboratorio Omega 4 (Omnium Roche Diagnostic) y se traspasaron los datos de procedencia a programas informáticos Access y Excel, para contabilizar las que proceden o no, y valorar los costes.

Resultados:

Se solicitaron 3241 determinaciones de PCT, de las cuales 3121 eran de pacientes hospitalizados o que acudían al servicio de Urgencias y 120 eran de otros pacientes (Consulta Externa, Atención Primaria)

El precio de cada determinación es de 26.71 €, por lo que esas 120 pruebas realizadas a pacientes no hospitalizados, que no estarían indicadas, ha supuesto un gasto de 3205,20€ en el periodo de estudio.

CONCLUSIONES:

Podemos decir que con los resultados obtenidos, sería adecuado revisar este tipo de solicitudes que implican un incremento del gasto y de carga asistencial en el laboratorio clínico, sin que la realización de las mismas aporte tampoco un mayor beneficio al paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 142

EVALUACIÓN DEL ANALIZADOR SYSMEX UF-500I (H. STA. BÁRBARA, PUERTOLLANO)

Autor/a/s: García Fernández, Gracia; Gómez Lajara, Gema; Caravantes Almena, María del Carmen

Centro de trabajo: Hospital Santa Bárbara

Localidad: Puertollano

Correo electrónico del primer firmante: graciagf@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El análisis de las partículas en orina mediante citometría de flujo por fluorescencia es una valiosa herramienta para confirmar ITUs, u orientar hacia patologías renales, sistémica o metabólicas. La técnica estandarizada de referencia es el examen al microscopio óptico de muestra urinaria fresca, donde se observa una gran variabilidad intraobservador, que implica imprecisión e inexactitud. Para evitar los inconvenientes mencionados, surgen los sistemas automatizados citómetros de flujo hidrodinámico por fluorescencia que nos aporta un conteo preciso y clasificación de los elementos formes en orina.

OBJETIVOS:

Evaluar la linealidad, precisión, límite de detección (LD) y de cuantificación (LQ) del analizador de partículas en orina, UF-500i para hematíes y leucocitos.

MATERIAL Y MÉTODOS:**Precisión**

Material: 3 muestras de orina fresca humana (máximo 2h después de la micción), de concentración baja, media y alta para hematíes y leucocitos.

Método: Realizar 10 análisis de orina secuenciales de una misma muestra en el modo manual del UF-500i (para usar 1 mL de muestra por análisis). Entre los 10 análisis secuenciales se debe homogenizar la muestra manualmente con un movimiento no brusco de 5 tiempos. En el caso de no tener orina suficiente o bien no tener suficiente concentración de las poblaciones celulares objetivo se puede mezclar 2 muestras distintas en un mismo bote. Estudiar el coeficiente de variación entre los resultados de los 10 análisis consecutivos.

Linealidad

Material: Muestras urinarias con las siguientes concentraciones: Leucocitos ~ 1000/ μ L; Hematíes ~ 1000/ μ L.

Método: Dilución en serie con NaCl 0,9% hasta una dilución 1:128, de cada muestra urinaria con alta concentración de partículas. Analizar 3 veces cada dilución y evaluar la linealidad según el valor medio. Empezar el análisis con la muestra de menor concentración hasta completar todas las diluciones.

Límites de detección y cuantificación

Material: Tubo de ensayo con salino (NaCl)

Método: 30 análisis consecutivos de salino, bajo condiciones de repetitividad. $LD=x + 3SD$; $LQ = 2 \cdot LD$ (Harmonized Guidelines for Single Laboratory IUPAC)

Equipo: UF-500i (Sysmex)

Equipo automatizado de conteo y clasificación de elementos formes en muestras de orina mediante la técnica citometría de flujo hidrodinámico por fluorescencia. Tiene una clasificación analítica de 65.000 partículas/muestra y un análisis adaptativo de poblaciones celulares presentes en orina fresca. La técnica no requiere centrifugación previa.

RESULTADOS:

Precisión: CV hematíes = 1,55% ; CV leucocitos = 0,99%

Linealidad: R2 hematíes = 0,9970 ; R2 leucocitos = 0,9993

LD hematíes= 0,26 ; LQ hematíes =0,52

LD leucocitos = 0,10 ; LQ leucocitos = 0,20

CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos tras el estudio en nuestro laboratorio para la validación del analizador UF-500i, ponen de manifiesto la excelente precisión del equipo sobre todo a altas concentraciones de hematíes y leucocitos con unos coeficientes de variación de 1,55 y 0,99 respectivamente.

En cuanto a la linealidad se observa una alta concordancia entre las partículas esperadas según las diluciones y las analizadas con el UF-500i obteniéndose una R2= 0,9970 y una R2=0,9993 para hematíes y leucocitos, respectivamente.

Los límites de detección son muy bajos, 0,26 y 0,10 para hematíes y leucocitos respectivamente. Así como los límites de cuantificación son de 0,52 para hematíes y 0,20 para leucocitos.

A ello añadir las ventajas de un análisis inmediato de la muestra sin centrifuga previa donde consideramos que se rompen partículas y se pierden también en el sobrenadante, la agilización del flujo de trabajo, usando validación automática de resultados según configuración definida en el laboratorio y reduciéndose el tiempo de respuesta significativamente.

Número: 147

DIFERENCIAS ENTRE LA ALBÚMINA OBTENIDA MEDIANTE LAS TÉCNICAS BCG Y BCP EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN FUNCIÓN DEL FILTRADO GLOMERULAR.

Autor/a/s: Julio Peiró García, Eva Naranjo Morillo, Miguel Hernández Torres, Paulina Mediavilla Perez

Centro de trabajo: Hospital Universitario Doctor Peset

Localidad: Valencia

Correo electrónico del primer firmante: julio.peiro@uv.es

RESUMEN:**INTRODUCCIÓN:**

La albúmina en suero humano puede determinarse por medio de varios métodos químicos. De todos ellos, los métodos colorimétricos son, quizá, lo más comunes debido a su bajo coste, rapidez y facilidad de automatización. Los métodos inmunoquímicos son seguramente más específicos, pero también más lentos y caros.

Entre los métodos colorimétricos más utilizados en la mayoría de laboratorios clínicos para determinar albúmina en suero, tenemos el verde de bromocresol (BCG) y el púrpura de bromocresol (BCP). A pesar de las ventajas antes citadas inherentes a estos métodos, los dos tipos de ensayos frecuentemente proporcionan resultados discordantes.

En la mayoría de casos, el método BCG proporciona concentraciones de albúmina en suero mayores que las obtenidas por el método BCP.

Estas diferencias pueden ser clínicamente importantes en ocasiones, debido a que algunas decisiones médicas se toman en base a los resultados de estos ensayos.

Se han publicado, por ejemplo, estudios en los que se demuestra que el método BCP presenta un error sistemático negativo en presencia de bilirrubina, no así el BCG.

Particularmente importante es el grupo de pacientes con enfermedad renal crónica (ERC). Se ha encontrado que el método BCG tiende a sobrestimar la concentración de albúmina respecto al método BCP en pacientes con ERC en tratamiento de diálisis, tanto hemodiálisis como peritoneal.

OBJETIVOS:

Determinar la diferencia existente entre la albúmina determinada por el método BCG y el método BCP teniendo en cuenta el filtrado glomerular (FG) que se calcula a partir de la concentración de creatinina mediante la fórmula CKD-EPI.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio observacional realizado empleando todos los resultados de las magnitudes BCG y BCP obtenidos en el laboratorio del Servicio de Análisis Clínicos del H. U. Dr. Peset entre los años 2009 y 2015, sumando un total de 4388 determinaciones de albúmina por el método BCP y de 4350 por el método BCG.

RESULTADOS:

Los pacientes se han agrupado en 5 categorías en función del FG. El primer grupo lo constituyen todos aquellos pacientes con un FG normal ≥ 90 mL/min 1.73 m². Los 4 restantes grupos se corresponden con los estadios de ERC 2 al 5 y caracterizados por los siguientes intervalos de valores:

FG	≥ 90	60-89	30-59	15-29	<15	mL/min 1.73m ²
BCG	4.1 \pm 0.5	4.0 \pm 0.5	3.8 \pm 0.5	3.7 \pm 0.5	3.7 \pm 0.5	g/dL
BCP	3.6 \pm 0.6	3.5 \pm 0.6	3.4 \pm 0.5	3.3 \pm 0.5	3.1 \pm 0.5	g/dL

Las diferencias entre BCG y BCP para cada uno de los grupos es de: 0.44, 0.45, 0.41, 0.45 y 0.60 g/dL.

CONCLUSIONES:

Efectivamente se constata que en los pacientes con ERC estadio 5 (diálisis) hay una diferencia de 0.6 g/dL tal como se encuentra en la bibliografía, pero también la hay independientemente de estadio renal, incluso en pacientes con un filtrado glomerular totalmente normal, aunque en menor medida: 0.43 g/dL de media.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 150

ENFERMEDAD DE TAY-SACHS: A PROPÓSITO DE UN CASO.

Autor/a/s: Moreno Robles, Almudena; Miranda Roldán, Esther; Chica Moral, Irene; Roldán Peñuela, María Jesús; Esteban Suárez, Eduardo.

Centro de trabajo: Hospital General de Baza (Laboratorio Bioquímica.

Localidad: BAZA (GRANADA).

Correo electrónico del primer firmante: eduesteban26@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El Tay Sachs es una enfermedad hereditaria, de carácter autosómico recesivo, con depósito lipídico en los lisosomas del cerebro. Los afectados son incapaces de sintetizar la hexosaminidasa que ayuda a la degradación de los gangliosidos que se acumulan en el cerebro con el consiguiente deterioro.

La determinación de otras enzimas (beta-galactosidasa, beta-cerebrosidasa y N-acetilneuraminidasa) son necesarias para la diferenciación de otras lipidoses (Gaucher, Fabry, etc).

OBJETIVOS:

Comparar los resultados de las determinaciones enzimáticas de hexosaminidasa A y B, beta-galactosidasa y beta-cerebrosidasa, que ayudaron al diagnóstico de un caso de enfermedad de Tay-sachs

MATERIAL Y MÉTODOS:

Las determinaciones se realizaron en suero de un paciente y un niño sano como control.

La determinación de la hexosaminidasa total se realizó mediante espectrofotometría con sustrato de 4 MU-NAGS (4 metil umbeliferil N acetil glucosamina 1mM en buffer 0.04 M citrato-fosfato, pH 4.4). La diferenciación de las dos isoenzimas A y B se realiza mediante inactivación térmica a 50°C durante 3 horas de la isoenzima A (método de O'Brien).

La beta-galactosidasa se midió con espectrofotometría enzimática por hidrólisis de la lactosa en glucosa y galactosa, con sustrato de lactosa 1% en buffer fosfato 0.1M, pH7, y parada reacción con perclórico.

La glucosidasa (beta glucosidasa acida o beta cerebrosidasa) se midió por espectrofotometría enzimática con oxidación de glucosa 0.1 M en buffer fosfato hasta glucónico y agua oxigenada y reacción cromogénica posterior con dianisidina.

RESULTADOS:

TABLA	PACIENTE	CONTROL
Hexosaminidasa A	262	2783
Sustrato 4 MU-NAGS		
Beta- galactosidasa	2039	2027
Beta-cerebrosidasa	533	661
N- acetilneuraminidasa	52	49

(SIALIDASA)		
UNIDADES nmoles/mg prot/h		

CONCLUSIONES:

1º La hexosaminidasa A es la prueba indicada para la detección de la enfermedad ya que en los pacientes está claramente reducida respecto al control.

2º Las otras enzimas cuantificadas no presentan variación con relación a los controles.

BIBLIOGRAFÍA:

Enfermedad de Tay-Sachs. <http://es.wikipedia.org>.

The National Tay-Sachs and Allied Diseases Association Inc. (<http://www.ntsad.org>).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 153

CRIBADO SEROLÓGICO DE LA ENFERMEDAD CELÍACA

Autor/a/s: SUSANA COLLANTE SÁNCHEZ, SUSANA DOMÍNGUEZ CÓRDOBA, FRANCISCA BORONAT LLORET

Centro de trabajo: UGC DE ANÁLISIS CLÍNICO DEL HOSPITAL DE LA LÍNEA

Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN

Correo electrónico del primer firmante: paquiboronat@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La enfermedad celíaca consiste en una intolerancia permanente a las proteínas del gluten del trigo (gliadina), del centeno (secalina), de la cebada (hordeína) y del triticale (híbrido de trigo y centeno). No está claro que la avena deba ser considerada nociva en esta patología.

La causa de la enfermedad es desconocida pero en su desarrollo contribuyen factores genéticos (HLA DQ2 y DQ8), ambientales (gluten) e inmunológicos.

La forma clínica clásica de la enfermedad con diarrea, distensión abdominal y malnutrición solo se observa en el 10-20% del total de los pacientes celíacos. La mayoría tienen escasa sintomatología o presentan signos clínicos atípicos.

La enfermedad celíaca afecta tanto a niños como a adultos y la relación mujer/varón es de 2:1.

Los anticuerpos antitransglutaminasa o los marcadores serológicos de enfermedad celíaca son el principal instrumento para su detección debido a su excepcional sensibilidad y especificidad.

Son de gran utilidad como indicadores de enfermedades celiaca, si bien la biopsia intestinal sigue siendo el patrón oro para establecer el diagnóstico.

Particularmente útiles en aquellos sin síntomas gastrointestinales, en aquellos con enfermedades asociadas a la enfermedad celiaca y para el despistaje de familiares de primer grado de enfermos diagnosticados.

La negatividad de estos marcadores no excluye definitivamente el diagnóstico, siendo necesario en ocasiones recurrir a pruebas más avanzadas (estudio genético) cuando la sospecha diagnóstica es elevada.

OBJETIVOS:

Realizar un estudio retrospectivo de los cribados de celiaquía procedentes de los servicios pediátricos

(hospitalización y consultas externas) durante el año 2014 en nuestra Área de Gestión Sanitaria del Campo de Gibraltar, con el fin de evaluar el punto de corte en déficits de IgA en nuestro laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODO:

La detección de la enfermedad celíaca es mayoritariamente serológica. En nuestro laboratorio el cribado de la celiaquía en menores de 36 meses incluye: el análisis de IgA Total Anticuerpos Antitransglutaminasa y Antigliadina IgA. En los casos de déficit de IgA Total (IgA menor o igual a 70) se amplía añadiendo Anticuerpos Antitransglutaminasa y Antigliadina de tipo IgG.

La determinación de IgA Total se realiza en un autoanalizador (Au5800 Beckman Coulter) por turbidimetría.

Los anticuerpos Antitransglutaminasa y Antigliadina se determinan por la técnica de Elisa (enzimunoanálisis de absorción) en Inmunocap 250 de Phadia.

Los Ac Antitransglutaminasa y Antigliadina IgG se envían a nuestro laboratorio de referencia externo (Reference).

RESULTADOS:

De las 176 determinaciones pediátricas realizadas, 51 presentaron un valor inferior al punto de corte establecido en nuestro laboratorio (IgA < o igual a 70 mg/dl). De las 51 muestras enviadas al laboratorio de referencia para la determinación de IgG Anti-Gliadina y Anti-Transglutaminasa, sólo 10 fueron positivas a anti-Gliadina y 2 también a anti-Transglutaminasa.

Si establecemos el punto de corte en < o igual 20mg/dl, tal como recomienda la bibliografía consultada, sólo hubiese sido necesario enviar 8 de las 51 muestras al laboratorio de referencia, entre las que se encuentran los dos casos con los dos anticuerpos IgG positivos.

CONCLUSIONES:

Disminuir el punto de corte puede suponer una mejor gestión de las muestras. Sin embargo, debido al pequeño tamaño muestral estudiado, pensamos que es necesario ampliar el estudio con el fin de establecer el punto de corte óptimo para evitar resultados falsos negativos.

vaca (APLV) es una reacción de hipersensibilidad inmunológica a las proteínas de la leche de vaca mediada o no, por anticuerpos IgE. Hay más de cuarenta proteínas de la leche de vaca y cualquiera de ellas puede ser alérgeno, las más frecuentes son: beta-lactoglobulina, alfa-lactoalbúmina y caseína.

La concentración en suero de la IgE específica a la proteína de la leche de vaca (PLV) es una prueba fundamental en el diagnóstico de APLV mediada por IgE (hipersensibilidad inmediata), también se utiliza para el seguimiento de la alergia ya que en el 80% de los casos este tipo de alergia desaparece al alcanzar los 4 - 5 años de edad¹.

OBJETIVO:

Valorar la incidencia de APLV mediada por IgE en pacientes de 0 a 6 años de edad, en el área de influencia de nuestro hospital durante los últimos 8 años.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se hizo un estudio retrospectivo desde el año 2007 hasta el 2014 con 7937 analíticas de niños de entre 0 y 6 años para la determinación de inmunoglobulinas de tipo E (IgE) para la PLV que median las reacciones alérgicas de tipo inmediato, fueron analizadas por un Phadia 250 (Inmuno Cap®), mediante una técnica de discos de papel de detección inmunoenzimática (ELISA).

Se consideran positivas las concentraciones superiores o iguales a 0.35 KU/L.

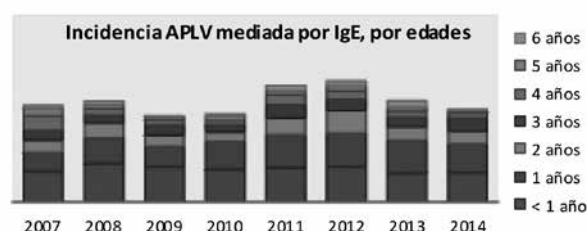
La incidencia se calculó dividiendo el número de casos nuevos con IgE mayor o igual a 0,35 KU/L entre la población de esa edad atendida por nuestro hospital. Asimismo, la tasa de incidencia se calculó dividiendo el número total de casos nuevos entre la población total atendida en esos 8 años. Ambos índices se expresaron en %.

RESULTADOS:

De las 7937 analíticas que se revisaron, 1342 niños diferentes obtuvieron su primer positivo durante el periodo analizado (tabla 1 y gráfico 1):

	Nº niños analizados	Niños con 1er resultado positivo	Población atendida <7 años	Incidencia (nº1er positivo/población atendida)
2007	937	160 (17,07%)	22.173	0,72%
2008	944	175 (18,54%)	22.796	0,77%
2009	1061	148 (13,83%)	23.051	0,64%
2010	909	153 (13,95%)	23.278	0,66%
2011	1087	200 (18,40%)	23.085	0,87%
2012	1010	202 (20,00%)	22.738	0,89%
2013	1041	163 (15,66%)	22.236	0,73%
2014	948	141 (14,87%)	21.685	0,65%

Tabla 1



Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 164

INCIDENCIA DE ALERGIA MEDIADA POR IGE FRENTE A LA PROTEÍNA DE LA LECHE DE VACA, EN EL AREA SANITARIA ATENDIDA POR EL HOSPITAL XERAL DE VIGO

Autor/a/s: Janeiro Varela, Patricia; Alonso Meira, Natalia; Villar Losada, Casimira; Rodríguez Murciego, Manuela; Álvarez Álvarez, María Isabel; López Álvarez, María Ignacia.

Centro de trabajo: EOXI-VIGO (XERAL-CIES)

Localidad: VIGO

Correo electrónico del primer firmante: patricia.janeiro.varela@sergas.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La leche de vaca es el primer alimento no homólogo que entra en contacto con el niño, por lo que las reacciones alérgicas se producen en edades muy tempranas. La alergia a proteína de la leche de

Cuando estratificamos los datos por edades, la tasa de incidencia por cada 100 niños en los 8 años estudiados, obtuvimos los siguientes datos (gráfico 2):

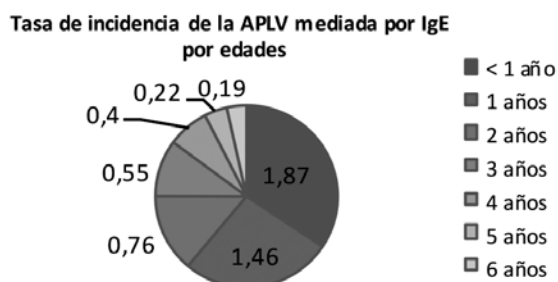


Gráfico 2

En las edades con mayor porcentaje de positivos (0-2años), la incidencia de positivos de IgE frente a la APLV durante este periodo, se observó la siguiente tasa (gráfico 3):



Gráfico 3

CONCLUSIONES:

La media de la incidencia de la APLV mediada por IgE en la población estudiada entre 2007 y 2014 es de 0,74% para niños de 0-6 años y 1,61% para edades de 0 a 2, lo que coincide con los datos encontrados en la bibliografía. Los estudios relacionados hablan de una incidencia en España entre 0,36% y el 3%, las cifras oscilan en función de la metodología diagnóstica y las edades estudiadas^{2, 3, 4}.

Por edades, el 58% de los pacientes obtienen su primer positivo en las edades más tempranas, desde el nacimiento hasta los 2 años de edad, lo que coincide con estudios sobre el tema⁵.

Aunque la bibliografía consultada habla de una tendencia al alza de la incidencia de la APLV 5 mediada por IgE entre los niños de 0 a 6 años, nosotros no constatamos este hecho en estos ocho años ($p > 0,05$).

BIBLIOGRAFÍA

- Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre proteínas lácteas, alergias y sus métodos de análisis. Revista del comité científico nº13. Número de referencia: AESAN-2010-009.
- Sanz Ortega J, Martorell A, Michavilla A., Nieto A., y Grupo de Trabajo para Alergia Alimentaria. Estudio de la incidencia de alergia mediada por IgE frente a la proteína de la leche de vaca en el primer año de vida. An Esp. Pediatr 2001; 53: 536-539.
- Plaza Martín A.M. Alergia a proteínas de leche de vaca. Protoc. Diagn ter pediatr. 2013; 1:51-61.
- Alergia a las proteínas de leche de vaca. Laura Moreno García. U.G.C. Pediatría. Hospital Clínico Universitario San Cecilio. Granada Bol. SPAO 2010;4(2).
- Epidemiología de la historia de alergia a proteínas de la leche de vaca en niños mayores de un año de edad y su tolerancia. A.M. Sacristán Martín, E. Lanza, A. Dos Santos Athaide. Rev Pediatr Aten Primaria vol.13 nº52 Madrid oct.-dic. 2011.

ELABORACION DE UN PLAN DE CONTINGENCIA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS ANTE LA CAÍDA DEL SISTEMA INFORMÁTICO DEL HOSPITAL

Autor/a/s: Maria Luisa Collado Bartolomé, Alberto Martín Gutierrez, Vanessa Rivera Aguilera, Alejandra Quattrochi Gómez, Sergio Salguero Fernández, Raquel Ferreirós Martínez.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de La Princesa

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: marisacb2@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El desarrollo de los sistemas informáticos en el ámbito de los laboratorios clínicos ha supuesto un gran impacto. Los sistemas actuales gestionan todas las fases del proceso del laboratorio y se integran e interaccionan con el resto de sistemas informáticos, tanto clínicos como de gestión.

Son de gran ayuda en los aspectos analíticos (procesamiento, gestión de muestras, gestión de equipos, control de calidad, validación técnica) y en los aspectos postanalíticos (validación clínica, edición de informes, distribución, archivo de muestras). El laboratorio de urgencias requiere el procesamiento rápido de las muestras, optimizando los tiempos de respuesta, sin olvidar la calidad analítica.

OBJETIVOS:

Ante caídas del sistema informático es importante elaborar protocolos de actuación con objeto de obtener una correcta coordinación del personal de laboratorio y el resto de servicios peticionarios, evitando errores preanalíticos, analíticos y postanalíticos, para mantener la calidad asistencial del paciente.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Para la elaboración del protocolo de actuación fue necesaria la creación de un grupo de trabajo formado por el personal de laboratorio y los servicios implicados (Servicio de Urgencias hospitalarias, UCI y Reanimación y el Servicio de Informática). Se describen minuciosamente los pasos a seguir para la realización de muestras analíticas ante la caída del SIH. Se elabora un mapa de procesos que se coloca de forma visible y accesible en el laboratorio. Se seguirá todo el protocolo hasta que se reestablezca completamente la conexión informática.

RESULTADOS:

Los puntos clave de actuación identificados y protocolizados fueron:

- Informar del corte informático a los responsables de la guardia.
- Las peticiones se enviarán con volante urgente grafitado a los que se le asignará un número de historia provisional desde la admisión del Servicio de Urgencias hospitalarias.
- Los servicios peticionarios ajustarán las peticiones a lo estrictamente necesario.
- El registro de las muestras en el laboratorio se hará manualmente mediante códigos específicos de colores reservados para esta incidencia.
- Se procederá a la programación manual de las mismas en los analizadores correspondientes.
- Los resultados obtenidos serán impresos por duplicado, enviando una copia adjunta con el volante original al servicio peticionario y otra copia que será archivada en el laboratorio.

7. Tras el reestablecimiento del sistema informático se procederá a la fusión del número de historia temporal con el número de historia definitivo por parte del Servicio de informática, volcando los resultados al historial del paciente correspondiente.
8. Informe de incidencias y evaluación de posibles errores: se informará de las incidencias y posibles errores al jefe de servicio y al responsable del laboratorio de urgencias que permita reevaluar el protocolo para llevar a cabo las mejoras oportunas.
9. Creación de las analíticas y volcado de resultados en el sistema de información del laboratorio una vez restablecida la conexión.

CONCLUSIONES:

La elaboración de un PNT ante la caída del SIH así como la puesta en conocimiento del mismo a todo el personal del laboratorio permite garantizar una correcta actuación por parte del personal implicado, permitiendo una actuación coordinada y minimizando la demora en la comunicación de los resultados analíticos. Al protocolizar la actuación, se reducen los riesgos de posibles errores, especialmente sobre los de mayor incidencia, es decir, en la fase preanalítica, manteniendo el servicio, la calidad de la asistencia y la seguridad del paciente. La puesta en práctica del protocolo ha permitido igualmente incluir mejoras en el mismo como la incorporación al punto 5 de la elaboración de una copia del volante original de la petición analítica para archivar en el Servicio de Análisis Clínicos, y en caso de que el corte sea programado sacar una lista de peticiones pendientes para localizar aquellas analíticas incompletas que ya están en el laboratorio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 167

EFFECTOS DE LAS INCIDENCIAS EN LA FASE PREANALÍTICA SOBRE LOS RESULTADOS DE LABORATORIO. A PROPÓSITO DE UN CASO.

Autor/a/s: Alberto Martín Gutiérrez, María Jesús Pacheco Fernández, María Luisa Collado Bartolomé, Alejandra Quattrochi Gómez, Natalia Pascual Gómez, Juan Francisco Quesada Espinosa

Centro de trabajo: Hospital Univ. de la Princesa

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: landerman@hotmail.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Es de fundamental importancia la correcta interpretación de los resultados analíticos, ya que se ha descrito que del 60-70% de las decisiones médicas están basadas en los datos del laboratorio clínico. Los errores en la fase preanalítica pueden llevar a confusión en la interpretación de los resultados, llegando a encontrarse con valores fuera del rango de referencia sin que por ello, sean motivo de una alteración clínico-patológica.

OBJETIVOS:

Identificar y evaluar los posibles errores e interferencias en el proceso analítico, de un caso clínico, para garantizar la calidad de la información que proporciona el laboratorio y así satisfacer una utilidad diagnóstica y terapéutica.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recibe petición analítica de una mujer de 98 años, de nacionalidad española, derivada desde Atención Primaria mediante extracción domiciliaria. El diagnóstico indicado por el médico peticionario es incapacidad o minusvalía. Se recibe muestra para determinación

de parámetros bioquímicos en tubo de heparina de litio con gelosa (Tapón verde claro). Los resultados de las determinaciones realizadas en el analizador cobas 8000 de Roche Diagnostic.

RESULTADOS:

De los resultados obtenidos destacan los valores plasmáticos de potasio (18.3 mE/L), calcio total (1.8mg/dL) y fosfatasa alcalina (1 U/L). El resto de parámetros bioquímicos dentro de la normalidad.

Para la determinación de parámetros bioquímicos se pueden utilizar muestras de suero o de plasma. el anticoagulante de elección para las determinaciones bioquímicas en plasma es la heparina de litio. Sin embargo para otras determinaciones, como los parámetros hematológicos, el anticoagulante de elección es el ácido etilendiaminotetraacético tripotásico (EDTA-K3), que actúa quelando de manera irreversible el calcio.

Observando los resultados, vemos que la alteración de los parámetros bioquímicos resaltados se puede explicar por una posible contaminación de la muestra con EDTA-K3, que produce un aumento en la concentración plasmática de potasio y un descenso a niveles muy bajos de la concentración de calcio. Asimismo, los valores de la actividad de fosfatasa alcalina plasmática casi indetectables se explican por la quelación de los iones magnesio por el anticoagulante, necesarios para la funcionalidad de la enzima.

CONCLUSIONES:

Actualmente, la mayor parte de las incidencias en el proceso analítico se producen en la fase preanalítica, representando hasta el 80%, debido en parte a que es la fase en la que mayor número de profesionales participan y existe menor automatización.

La mayoría de los errores preanalíticos que detectamos en nuestro laboratorio son: muestra hemolizada, lipémica, insuficiente, incorrecta o coagulada. En este trabajo presentamos un caso de error preanalítico por contaminación con EDTA-K3. Este tipo de errores no son habituales en el ámbito intrahospitalario, tratándose de una incidencia aislada en el laboratorio. Los casos detectados generalmente proceden de centros de extracción externos al hospital, posiblemente por el desconocimiento por parte del personal de estos centros de los efectos que tiene dicha contaminación en los resultados analíticos.

Esta mala praxis implica la repetición de la solicitud analítica, la demora en la obtención de los resultados y, en general, ineficiencias en el sistema que tienen como resultado un incremento de los costes y un empeoramiento de la calidad asistencial.

En nuestro laboratorio hay establecido un registro de los errores preanalíticos detectados con la finalidad de aplicar acciones preventivas y correctivas y, además, se promueve la formación del personal sanitario para minimizar las incidencias en la fase preanalítica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 174

FRECUENCIA DE HLA SUSCEPTIBLE DE ENFERMEDAD CELIACA EN PACIENTES CON MANIFESTACIONES ATIPICAS DE LA ENFERMEDAD.

Autor/a/s: LORENA BENITEZ HERNANDEZ, ELENA GARCIA GARCIA, CRISTINA SALVADOR AMUEDO

Centro de trabajo: HOSPITAL DEL TAJO. BR SALUD

Localidad: ARANJUEZ, MADRID

Correo electrónico del primer firmante: lorebh2002_1@hotmail.com

INTRODUCCIÓN:

La Enfermedad Celiaca silente es muy frecuente en la población en general y su falta de diagnóstico implica efectos adversos en la salud de los pacientes afectados. Dichos efectos mejoran con una dieta exenta de gluten. Se estima que un alto porcentaje de pacientes adultos presentan síntomas atípicos y manifestaciones extraintestinales, con un importante infradiagnóstico.

La Enfermedad Celiaca tiene una fuerte asociación genética con la región HLA-DQ. Alrededor de un 90-95 % de los pacientes con enfermedad celiaca son HLA-DQ2 o DQ8. La ausencia de HLA-DQ2 y HLA-DQ8 tiene un fuerte valor predictivo negativo para la enfermedad celiaca.

OBJETIVOS:

Investigar características clínicas y genéticas de los pacientes adultos con síntomas no específicos de la enfermedad celiaca con el fin de conducir a una mejor detección de la enfermedad en este grupo de sujetos.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se incluyeron aproximadamente 1200 pacientes ambulatorios sin síntomas específicos de enfermedad celiaca atendidos en la Unidad de Digestivo del Hospital del Tajo (Aranjuez, Madrid) en un periodo comprendido entre Marzo del 2012 y Junio del 2014.

La determinación del HLA se realizará en sangre venosa mediante el test DQ-CD SCREEM (Biodiagene®), este test rápido permite excluir la población que no presenta haplotipo DQ2 o DQ8 (75% de la población general). En los casos positivos se realizará el test DQ-CD TYPING que permite la detección de los alelos HLA que codifican por los haplotipos asociados con la Enfermedad Celiaca (DQ2-DR3/DR7 Y DQ8-DR4).

Se realizó la identificación directa de las muestras de los homocigotos para el alelo DQB1*02.

Los alelos detectados son: HLA II DQA1*0201, DQA1*03, DQA1*05, DQB1*02, DQB1*0301/0304, DQB1*0302/05, DRB1*03, DRB1*04, DRB1*07, DRB1*11, DRB1*12.

Celiac Gene Typing identifica el riesgo de desarrollar Enfermedad Celiaca en base a los alelos específicos. Ambos test proporcionan un procedimiento de extracción que permite obtener muestras de ADN a partir de cantidades muy pequeñas de sangre (10 microlitros). Para ello se realizó un procedimiento con tres fases:

- Lisis- extracción de DNA
- PCR
- Lectura- interpretación

RESULTADOS:

El análisis se realizó en aproximadamente 1200 pacientes, de los cuales el 35% eran varones y el 65% mujeres con una edad media de 45 años. La prueba de screening HLA detectó 687 (58%) casos positivos (DQ2 o DQ8), todos ellos confirmados por tipificación.

CONCLUSIONES:

En pacientes adultos con síntomas inespecíficos se produce un retraso en el diagnóstico de la enfermedad. Así, la detección de la ausencia o presencia (screening) de HLA DQ2 y DQ8 con el fin de identificar a los pacientes con riesgo de Enfermedad Celiaca. Es un enfoque rápido y preciso para conocer los sujetos que necesitan procedimientos de diagnósticos adicionales. Las biopsias de intestino se pueden reservar solo para pacientes con riesgo de Enfermedad celiaca y marcadores genéticos positivos.

EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE RESPUESTA EN UN LABORATORIO DE URGENCIAS UTILIZANDO MODULAB GOLD.

Autor/a/s: Pacheco Fernández, María Jesús; Rivera Aguilera, Vanesa; Martín Gutiérrez, Alberto; Martínez Martínez, María José; Ferreirós Martínez, Raquel y Salguero Fernández, Sergio.

Centro de trabajo: Hospital Universitario La Princesa

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: MariaJPachecof@hotmail.com

RESUMEN:**INTRODUCCIÓN:**

El tiempo de respuesta se define como el tiempo que transcurre entre la recepción de las muestras y la comunicación de los resultados. Su determinación es un indicador de la calidad del laboratorio, con especial relevancia en el laboratorio de urgencias al ser imprescindible proporcionar una respuesta rápida y precisa.

OBJETIVOS:

Evaluar el tiempo de respuesta en el laboratorio de urgencias empleando para su monitorización los tiempos de respuesta medios diarios que proporciona el sistema informático de laboratorio, así como comprobar su correcta medición y deficiencias del sistema y estudio de las posibles causas de demora.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha evaluado retrospectivamente el tiempo de respuesta del laboratorio de urgencias durante el mes de noviembre de 2014, utilizando los tiempos de respuesta medios, usando la prueba de glucosa como prueba trazadora, proporcionados por Modulab Laboratorio v 2.2.088 (build 3) de IZASA, para los diferentes turnos de mañana, tarde y noche. Además, se midieron los tiempos de respuesta para cada una de las peticiones de bioquímica realizadas al laboratorio de urgencias comprendidas en el periodo del 24-30 de noviembre de 2014, siendo excluidas aquellas solicitudes en las que se incluía análisis de orina en la misma petición así como las muestras de líquidos biológicos. Las peticiones que excedían el objetivo de tiempo de respuesta aceptable (igual o inferior a 60 min) fueron analizadas individualmente para detectar las posibles causas, excluyendo aquellas en las que se identificaron causas justificadas de demora como: solicitud de ampliación, solicitud de nueva muestra por mala extracción o una demora en la recepción de un tubo de la petición. Los estadísticos descriptivos de media, mediana, desviación estándar, máximo, mínimo y la proporción de tiempos de respuesta aceptables, y los diagramas de cajas correspondientes fueron determinados utilizando IBM SPSS v22.

RESULTADOS:

Los resultados de los tiempos de respuesta se resumen en las Tablas 1, 2 y 3. En las Figuras 1, 2 y 3 se representan los mediante diagramas de cajas.

	Mañana	Tarde	Noche
Media	50	44.1	63.2
Mediana	50.5	44	63
Desviación estándar	6.2	3.4	11.2
Máximo	66	48	88
Mínimo	39	39	42
TR apropiado (%)	90	96.7	40

Tabla1. Tiempos de respuesta medios diarios para noviembre.

	Mañana	Tarde	Noche
Media	50	44.1	62.7
Mediana	49	44	63
Desviación estándar	8	3.4	10.6
Máximo	65	48	74
Mínimo	42	39	42
TR apropiado (%)	85.7	100	28.6

Tabla2. Tiempos de respuesta medios diarios del 24- 30 de noviembre.

	Mañana	Tarde	Noche
Media	0:50:58	0:47:45	1:08:49
Mediana	0:45:00	0:44:00	1:01:00
Desviación estándar	0:26:33	0:18:45	0:35:03
Máximo	4:40:00	3:09:00	5:01:00
Mínimo	0:26:00	0:08:00	0:25:00
TR apropiado (%)	82.6	83.5	48.2

Tabla 3. Tiempos de respuesta del 24 al 30 de noviembre descartando causas justificadas de demora.

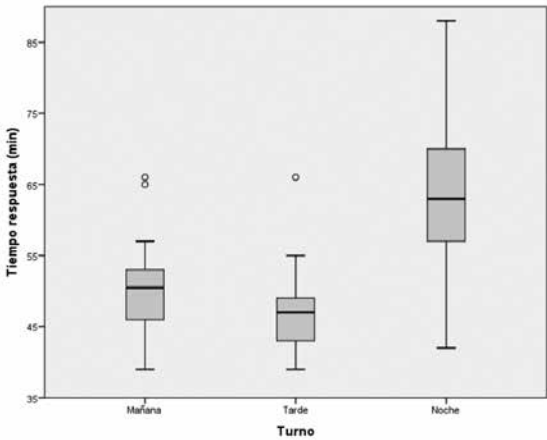


Figura 1.

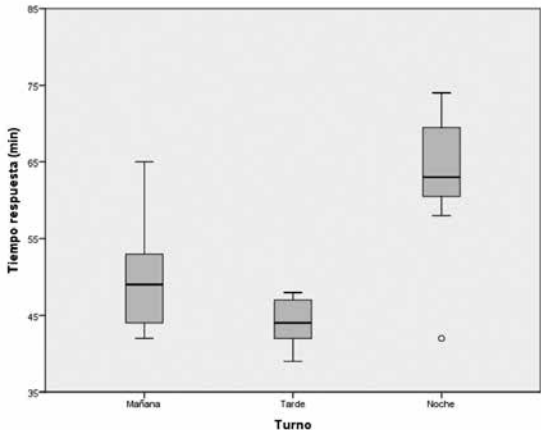


Figura 2.

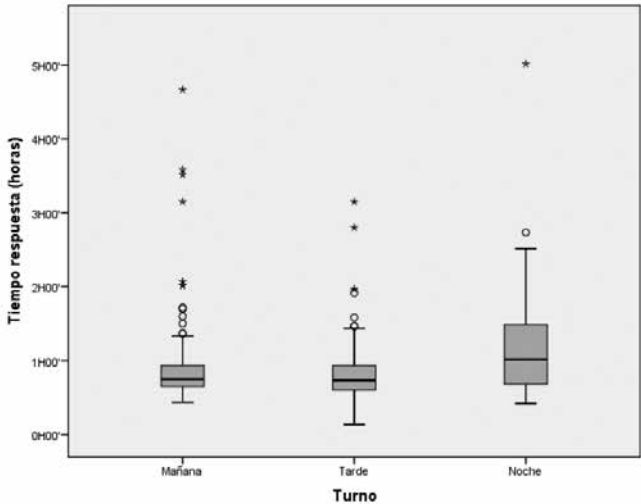


Figura 3.

CONCLUSIONES:

La semana estudiada en detalle es representativa del mes, dado que los datos proporcionados por la prueba trazadora para esta semana son similares a los proporcionados para el mes completo. Los tiempos de respuesta obtenidos manualmente al excluir del estudio aquellas peticiones con causas justificadas de demora, no difieren respecto a los tiempos medios calculados directamente. Por otra parte, la representación por tiempos medios no permite identificar fallos puntuales graves sobre los que es necesario actuar. Además, este estudio permitió detectar un aumento del tiempo de respuesta en el turno de noche y aplicar medidas correctoras.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 179

HEMOGLOBINA GLICOSILADA

Autor/a/s: MOYA COMÍ, M^aJOSÉ; ANTÓ CARO, NOELIA; CALVET PLA, CINTA; CANO FORTUÑO, ELENA; CODORNIU CODORNIU, ADRIÀ; MOLLÀ OLLER, ISABEL; SANS MATEU, TERESA; CENTELLES SERRANO, M^aJOSÉ.

Centro de trabajo: HOSPITAL DE TORTOSA VERGE DE LA CINTA

Localidad: TORTOSA

Correo electrónico del primer firmante: mjmoya.ebre.ics@gencat.cat

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica, que se caracteriza por presentar hiperglucemia debido a un defecto en la secreción de la insulina o un defecto en su acción. Una hiperglucemia persistente en el tiempo puede causar daño, disfunción o fallo en varios órganos y sistemas como riñones, ojos, nervios, corazón y vasos sanguíneos. La hemoglobina glicosilada (HbA1c) nos permite: a) evaluar el control de la glicemia en la diabetes; b) diagnosticar la diabetes, y c) ayudar en el seguimiento de los pacientes con riesgo de diabetes. La HbA1c es el resultado final de la interacción no enzimática y prácticamente irreversible entre los grupos aldehído de la glucosa, unidos covalentemente a las valinas de los extremos N-terminales de las cadenas ² de la hemoglobina; sus concentraciones son directamente proporcionales a la concentración de glucosa existente en el medio.

La hemoglobina está constituida por 3 fracciones: HbA2 (2,5%), HbF (0,5%) y HbA1 (97%). El 80% de la HbA1 es la HbA1c, resultado de la interacción de la glucosa con la Hb de los eritrocitos. Esta nos permite establecer una relación directa entre la concentración de glucosa y el tiempo de exposición (vida del hematíe) reflejando la concentración de la glucosa en un periodo de 8-12 semanas.

OBJETIVOS:

Realizar un estudio retrospectivo del número de determinaciones de HbA1c realizadas en la población de les Terres de l'Ebre durante un año en el Hospital de Tortosa Verge de la Cinta (HTVC), clasificar estas determinaciones según el sexo y edad del paciente y establecer la correlación entre HbA1c y las glicemias.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Las pruebas se han realizado con el autoanalizador HA-8160 de Menarini-Arkray. Para realizar la prueba se utiliza sangre total no coagulada recogida en tubos de extracción al vacío EDTA y los siguientes reactivos: Hemolizante, Eluyente A, B y C.

La técnica utilizada para detectar la HbA1c mediante el HA-8160 es una cromatografía líquida de alta presión que separa la HbA1c por cromatografía de intercambio iónico en fase reversa, con eluyentes con una fuerza iónica y un pH tal que las HbA1c estén cargadas menos positivamente que el resto de la Hb A. La fracción lábil de la HbA1c eluye antes que la HbA1c.

RESULTADOS:

De las 13987 pruebas realizadas en el HTVC durante un año, un 51,6% (7213) son hombres y el 48,4% (6772), mujeres. La distribución por edades es la siguiente: 0-16 a. son 81 (0,58%) pruebas, 17-25 a., 98 (0,70%), 26-35 a., 327 (2,34%), 36-45 a., 742 (5,30%), 46-55 a., 1684 (12,04%), 56-65 a., 3051 (21,81%), 66-75 a., 3840 (27,45%), >75 a., 4164 (29,77%). La recta de regresión tiene un valor igual a $y=26,898x+50,175$, con una $R^2=0,724$ y una $p<0,001$.

CONCLUSIONES:

Se puede observar que un 70,53 % de los pacientes tiene un buen control de la glicemia (el valor de la HbA1c es inferior al 7%) y el 29,47% restante están mal controlados, con unos valores superiores o igual al 7%. Para terminar, se puede concluir que existe una correlación entre la HbA1c y la glucosa de las determinaciones que se han realizado en los pacientes del HTVC durante el año estudiado.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 181

HEPATITIS C CRÓNICA Y DIABETES MELLITUS TIPO 2

Autor/a/s: RIOS RAMOS MARIA JOSE; MONGE CAMACHO MARIA DEL PATROCINIO Y VILORIA PEÑAS MARIA DEL MAR.

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE VALME

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: mj.rios.rios@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El papel del virus de la hepatitis C (VHC) en el desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2, se apoya en recientes publicaciones epidemiológicas y moleculares. Además la resistencia a la insulina (RI) disminuye en pacientes con respuesta viral sostenida al tratamiento con peginterferón más ribavirina.

OBJETIVO:

Conocer la incidencia de glucosa en ayunas alterada (IFG) y Diabetes Mellitus tipo 2, en pacientes con Hepatitis C crónica tratados con peginterferón más ribavirina.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se incluyeron 525 pacientes que procedían de 4 hospitales españoles. Todos los pacientes tenían biopsia positiva para Hepatitis C crónica y fueron tratados con peginterferón más ribavirina durante 24-48 semanas dependiendo del genotipo. Se consideró que existía respuesta viral sostenida (RVS) cuando el RNA VHC fue negativo 6 meses después de terminar el tratamiento. Se estudió la historia familiar de DM2, la edad, el sexo, el peso, la altura, el índice de masa corporal ($IMC=\text{peso}/\text{altura}^2$); los factores de riesgo de la infección, la esteatosis hepática y el grado de fibrosis. Se diagnosticó DM2 e IFG por la anamnesis y por 2 medidas de glucemia consecutivas. Los pacientes se siguieron hasta Octubre 2.005 (media 36 \pm 20 meses).

RESULTADOS:

Las características de la cohorte fueron: 52 pacientes tenían DM2 de base (9,9%) y 26 IFG (4,9%), el 32,1% tenían historia familiar de DM2. El 35,8% fueron mujeres. El 64,2% tenían genotipo 1; de ellos, el 41,8% tenían esteatosis y el 23,1% mostraron fibrosis avanzada (F3-F4). La media de edad fue de 45 \pm 10 años, la glucemia fue de 93 \pm 11 mg/dL y el IMC: 26,1 \pm 4,7 Kg/m². En el grupo de los 447 pacientes con glucemia normal en ayunas, 247 alcanzaron la RVS (55,3%). Glucemia en ayunas alterada y/o DM2 se detectó en 13 de los 247 (5,2%) pacientes con RVS y en 21 de los 200 (10,5%) que no presentaron RVS. El test fue estadísticamente significativo ($p<0,01$). En la regresión de Cox las variables asociadas de forma independiente con el desarrollo de IFG o DM2 fueron la ausencia de RVS ($OR=1,1(1,01-1,16)$), mientras que se excluyeron la historia familiar de DM2, la fibrosis, el sexo y la edad.

CONCLUSIONES:

La respuesta viral sostenida al tratamiento con peginterferón más ribavirina en pacientes con Hepatitis crónica C disminuye el riesgo de desarrollar glucosa en ayunas alterada y/o diabetes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 185

ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LA CREATININA KINASA MB Y LA TROPONINA T ULTRA SENSIBLE EN PLASMA A LAS 12 Y 24 HORAS

Autor/a/s: Struzka Eduardo Adrián, Macías Ibán, Moreno María del Mar, Ramírez Novés José Luis, Gonzalez de Aledo Castillo José Manuel, Dastis Arias Macarena.

Centro de trabajo: Hospital Universitari de Bellvitge

Localidad: Hospitalet de Llobregat

Correo electrónico del primer firmante: eduas22@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El laboratorio debería conocer la estabilidad de las magnitudes que se analizan en él. Para ello se necesitaría saber la estabilidad de todas ellas en condiciones reales de conservación. En el laboratorio de urgencias (LU) del Hospital Universitari de Bellvitge (HUB), las muestras se procesan sin demora a la recepción, pero pueden haber situacio-

nes que retrasen el proceso o que obligan a tener que repetir el análisis de las mismas. En este trabajo se estudio la estabilidad de dos magnitudes frecuentes solicitadas: la Creatinina Kinasa MB (CKMB) y la Troponina T ultra sensible (TnTus); demostrando si son estables durante 12-24 horas.

OBJETIVOS:

Estudiar la estabilidad de la CKMB y la TnTus en plasma a las 12 y 24 horas desde la llegada de la muestra al laboratorio de urgencias.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio se lleva a cabo en el LU del HUB. Las muestras de plasma se obtienen a partir de sangre extraída en tubos de 4 mL con anti-coagulante (heparina de litio). Una vez en el laboratorio, la muestra se centrifuga a 1500 g durante 10 min. Posteriormente se analiza en el analizador Cobas6000 de Roche Diagnostics, mediante electroquimioluminiscencia (t0). Una vez procesada, la muestra se tapa y se almacena a temperatura ambiente, expuestas a la luz. Se repite la medición a las 12h y a las 24 horas (tf).

Se calcula la estabilidad (E) de la magnitud según el criterio de la Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular (SEQC) utilizando la fórmula $E = 1.65 \cdot CV$.

La imprecisión (CV) se obtiene mediante la medida de ambas magnitudes en una mezcla de 25 plasmas con concentraciones medias de 3 mg/L para la CKMB y 50 ng/L para la TnTus. Por otro lado se obtiene la desviación porcentual entre cada pareja de valores medidos para cada magnitud aplicando la formula: $DP = 100 \cdot ((Y_i - X_i) / X_i) / n$; donde $i = 1, 2, 3 \dots$; Y_i : valor obtenido a t_0 y X_i es el valor obtenido a $t = t_f$; n : número de muestras. Por último, para cada magnitud, se compara la desviación porcentual (DP) con el límite de estabilidad establecido previamente. Si $DP < E$, se considera que las magnitudes son estables.

RESULTADOS:

El mínimo número de muestras analizadas para cada magnitud han sido: $n=20$ CKMB y $n=40$ TnTus. De ellos el CV obtenido en la mezcla de muestras es de 3,64% para la TnTus y de 1,90% para la CKMB. Se obtienen una DP de 1,62 y de 2,27 para la TnTus a 12 y 24 horas respectivamente y de 1,71 y de 2,82 para la CKMB a 12 y 24 horas respectivamente. El límite de estabilidad obtenido para la TnTus es de 6.01 y para la CKMB de 3.15. Por lo tanto, para ambas magnitudes tanto a las 12 horas como a las 24 horas $DP < E$.

CONCLUSIONES:

Las magnitudes CKMB y TnTus son estables a las 12 y a las 24 horas desde su llegada al laboratorio de urgencias en las condiciones de almacenamiento descritas anteriormente.

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cáncer de la próstata es el segundo cáncer más frecuente en los hombres después del de piel, en España se diagnostican unos 13.300 casos anuales. Metastatiza en glándulas suprarrenales hígado, hueso y pulmón. El PSA debe solicitarse cuando un paciente presenta síntomas que sugieran la presencia de cáncer de próstata ya que existe el acuerdo de que los varones con un PSA total por encima de 10.0 ng/mL presentan un riesgo mayor de padecer cáncer de próstata (con una probabilidad superior al 67% según la American Cancer Society - ACS.) En cánceres de próstata con metástasis óseas se secretan isoenzimas de la fosfatasa alcalina lo que provoca un aumento de su nivel en sangre.

Se describe un caso clínico de cáncer de próstata, donde influye la rápida y correcta actuación del técnico de laboratorio

OBJETIVOS:

Establecer la importancia del técnico de laboratorio en identificar resultados que salen de rango en las muestras analíticas y así proceder a la ampliación de ciertas pruebas para fines diagnósticos como en este caso.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recibe petición analítica desde Atención Primaria de un varón de 86 años con diagnóstico de incontinencia urinaria. Tras revisar los resultados dados por el analizador bioquímico COBAS6000 de ROCHE diagnostic, al técnico de laboratorio le llama la atención una elevada fosfatasa alcalina sin otra alteración analítica de interés. Se considera avisar al facultativo de guardia en el laboratorio para estudiar la historia clínica del paciente.

RESULTADOS:

En la analítica recibida de urgencia se observa un valor de la fosfatasa alcalina de 356 U/L

sin otra transaminasa alterada, razón por la que se amplía el marcador PSA tras haber estudiado la historia clínica del paciente y ver datos como el sexo, la edad, enfermedades anteriores. Se ve que no tiene ningún diagnóstico relacionado con nuestras sospechas.

Dicha prueba se realiza en el laboratorio de rutina en el analizador ARCHITEC plus i 4000 sr de ABOTT diagnostic dando un valor de PSA de 212.21 ng/mL.

El paciente, que es varón y de edad avanzada, en años anteriores tenía un marcador tumoral PSA con valores normales (1.08 ng/mL y 1.03 ng/mL) y en la muestra estudiada se ve un claro aumento del valor.

Se avisa al médico peticionario de la analítica para que tome las decisiones pertinentes cuanto antes.

CONCLUSIONES:

Se constata la considerable importancia del técnico de laboratorio en saber interpretar correctamente dichos valores analíticos iniciales y saber como estudiarlos para poder realizar un correcto y precoz diagnóstico de ciertas enfermedades ampliando pruebas claves para ello, ahorrando tiempo al paciente y el consecuente sufrimiento que conlleva todo el proceso así como abaratar costes en posibles pruebas que se le hubieran realizado sin ningún resultado relevante.

El cáncer de próstata es una de las principales causas de metástasis ósea. La edad del paciente y el motivo de su analítica combinados con un valor elevado de la FA sin otros hallazgos relevantes nos hacen sospechar un origen prostático.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 187

AMPLIACIÓN DE PRUEBAS DIAGNÓSTICAS. A PROPÓSITO DE UN CASO

Autor/a/s: RIVERA AGUILERA, VANESSA; COLLADO BARTOLOME, M^a LUISA; PACHECO FERNANDEZ, M^a JESUS; MARTINEZ MARTINEZ, M^a JOSE; PASCUAL GOMEZ, NATALIA; MRINI, ADIL.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de La Princesa

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: vanessa.rivera82@gmail.com

RESULTADOS DE HEMOGLOBINA GLICOSILADA DEPENDIENDO DE HEMOGLOBINOPATIA

Autor/a/s: M^a ROSARIO MEJIAS GARCIA, CARLOTA M^a GOMEZ ROMAN, SOLEDAD TORRES ULINES

Centro de trabajo: BIOQUIMICA, HOSPITAL VIRGEN MACARENA

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: mrm.8884@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La determinación en el laboratorio de Hemoglobina Glicosilada (HbA1c.) es el marcador mas adecuado para el manejo del control glucémico ya que refleja la concentración promedia de glucosa tres meses previos a su determinación.

Este parámetro tiene una serie de ventajas como son una menor variabilidad individual, inestabilidad analítica, no requiere ayunas y la muestra es muy estable. Existen una serie de factores que pueden interferir en su determinación como son la disponibilidad de glucosa, la velocidad de glicación, el recambio eritrocitario y las variantes de hemoglobina. Se conocen unas mil variantes estructurales diferentes, siendo cuatro las mas

Importantes tanto por su frecuencia como por su importancia: HbS, HbC, HbD y HbE. Son alteraciones cuantitativas ó cualitativas de las cadenas de globina secundarias a mutaciones genéticas pudiendo en algunos casos falsearnos los resultados y por tanto dando lugar a errores en el control del paciente diabético.

OBJETIVOS:

Contabilizar y diferenciar los resultados de las determinaciones de Hemoglobina glicosilada

que se han analizado en el laboratorio de Bioquímica del Hospital Virgen Macarena.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En el laboratorio la determinación de HbA1c. se hace por cromatografía de intercambio iónico HA8180 analizador de la casa comercial Menarini Se recogieron las determinaciones de Hemoglobina Glicosilada durante el año 2013, valorando un estudio de resultados, normales, prediabéticos y diabéticos.

RESULTADOS:

El total de las determinaciones de hemoglobina glicosilada en el año 2013 fueron 71.215

De las cuales:

- Normal (no hay diabetes) valor menos de 5.7% son : 25.827
- Prediabetes, valor entre 5.7 6.4% son: 18.532
- Diabetes, valor 6.5% - o más, son : 26.856

CONCLUSIONES:

Este parámetro de Hemoglobina glicosilada, es muy efectivo para detectar el control

Glucémico tres meses previos a su resultados. Es importante la revisión de la cromatogramas.

USO DEL METOTREXATE PARA EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA INFANTIL

Autor/a/s: M^a ROSARIO MEJIAS GARCIA, SOLEDAD TORRES ULINES, CATALINA SANCHEZ MORA

Centro de trabajo: BIOQUIMICA, HOSPITAL VIRGEN MACARENA

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: mrm.8884@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El metotrexato tiene su origen a mediados de los años cuarenta del siglo XX, se creó un anti-folato, una molécula capaz de inhibir una enzima implicada en la síntesis del ácido fólico. El metotrexato fue administrado a un grupo de niños enfermos de leucemia, comprobándose su efecto beneficioso, por lo que se considera que este fármaco marcó el comienzo de la quimioterapia en oncología.

El MTX es un antimetabolito que posee actividad antiproliferativa e inmunosupresora por inhibir competitivamente a la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR), enzima clave en el metabolismo del ácido fólico que regula la cantidad de folato intracelular disponible para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Impide la formación de tetrahidrofolato necesario para la síntesis de ácidos nucleicos. Cataliza la reducción de 5,10 metilén tetrahidrofolato a 5 metil tetrahidrofolato, forma en que circula el folato endógeno, que es el donador de grupos metilo necesarios para la conversión de homocisteína a metionina durante la síntesis de proteínas. Este afecta principalmente a células que se encuentran en fase S del ciclo celular.

OBJETIVO:

Realizar un estudio descriptivo de los pacientes, servicio peticionario mayoritario y uso en la monitorización de los niveles de Metotrexate cuando se utilizan a dosis altas para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda infantil en el Laboratorio de Urgencias del Hospital Universitario Virgen Macarena, en el año 2014.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La determinación de Metotrexate se realizó en el autoanizador Cobas 6000 (Roche®) por una técnica de inmunoensayo enzimático homogéneo que se basa en la competencia entre el fármaco de la muestra y el fármaco marcado con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa por los sitios de unión de los anticuerpos. La actividad enzimática disminuye al unirse al anticuerpo, de manera que la concentración de fármaco en la muestra puede medirse en función de la actividad enzimática. La enzima activa convierte el dinucleótido de nicotinamida y adenina oxidato (NAD) en NADH lo cual causa una variación de la absorbancia que se mide por espectrofotometría.

Los resultados de la cuantificación de los niveles de MTX, datos demográficos de los paciente (sexo y edad) y servicio peticionario se obtuvieron del sistema informático del laboratorio.

RESULTADOS:

Se analizaron un total de 108 pacientes durante el año 2014, de estos 102 son varones y 6 mujeres, en cuanto a la distribución por edades 85 peticiones eran pacientes entre 14 y 5 años, 7 peticiones eran pacientes con 38 años y el resto 16 peticiones eran adultos entre 39- 84 años. La procedencia de las peticiones analíticas era fundamentalmente del servicio de Oncología Pediátrica, en cuanto a la monitorización de los niveles plasmáticos de Metotrexato se determinan a las 24, 48 y 72h desde la infusión del fármaco, con la finalidad de

comprobar su total eliminación dada su alta toxicidad dosis dependiente.

CONCLUSIONES:

El metotrexato sigue siendo actualmente fármaco de elección para los casos de leucemia linfoblástica aguda infantil es por ello que el servicio peticionario mayoritario sea oncología pediátrica, la incidencia es claramente superior en el sexo masculino y en cuanto a su monitorización las concentraciones plasmáticas son el mejor valor predictivo de toxicidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 190

PUNTO DE CORTE DE LA CROMOGRANINA EN TUMORES NEUROENDOCRINOS NO FUNCIONANTES

Autor/a/s: Moran Criado Maria Jesus, Sanchez Mateos Carmen Beatriz, Romero Garcia Paula, Martin Andres Maria Felicidad; Casado Hernandez Maria del Carmen; Sendin Hernandez Maria Paz.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: chusmocri@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La cromogranina A pertenece a la familia de las graninas (cromograninas y secretograninas) y

son las principales constituyentes de los gránulos de secreción de los tumores neuroendocrinos (TNE),

Son estos un grupo heterogéneo de neoplasias de muy diferente evolución y comportamiento, pero las podemos agrupar en dos clases: las funcionan tes que secretan la hormona correspondiente a la localización del TNE y por lo tanto esta se convierte en marcador y las no funcionantes en las que el marcador más usado es la cromogranina A.

OBJETIVO:

Encontrar un valor de cromogranina A, que nos sirva de punto de corte para diagnosticar y controlar el tratamiento de los TNE no funcionantes, teniendo en cuenta la gran complejidad y variedad que existe dentro de esta patología.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En una muestra de 28 pacientes que presentaban TNEs no funcionantes, diagnosticados mediante métodos de imagen y anatomía patológica, frente a 24 controles sanos, se midieron los niveles séricos de Cromogranina A, para todos ellos con un enzimoimmunoensayo (ELISA) de DRG distribuido por Vitro Diagnostic. Los cálculos se hicieron con el paquete estadístico SPSS 18.0

RESULTADOS:

Se realizaron pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov) resultando una población de distribución no normal.

La mediana para la población sana es de 7.6 µg/L (P5=0, P95=80.78), los pacientes que padecían TNE mostraban una mediana de 224.3 µg/L (P5=14.31, P95= 1352.1).

Se calculó una curva ROC enfrentando las dos poblaciones, sana y enferma y se obtuvo un área bajo la curva de 0.964. Para un valor de corte de 90.6 µg/L, se obtiene una especificidad = 100% y una sensibilidad =89.3%.

CONCLUSIONES:

La cromogranina A resulta un marcador de alta especificidad y de gran sensibilidad, tomando el valor de 90.6 µg/L como punto de corte resulta de gran ayuda en el diagnóstico, en el control del tratamiento y en la monitorización de la evolución de la enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 191

UTILIDAD DE LA PROTEINA 4 DEL EPIDIDIMO HUMANO (HE4) EN CÁNCER DE OVARIO

Autor/a/s: Sastre Garrote Ana Maria; Fernandez Martinez Maria Mercedes; Sanchez Mateos Carmen Beatriz; Hernandez Benito Melania; Casado Hernandez Maria del Carmen; Carrasco Martin Eva Maria; Hernandez Cerceño Maria Luisa.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: amita63@hotmail.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La proteína 4 del epidídimo humano fue identificada por primera vez en el epitelio del epidídimo distal. Los epitelios de los tejidos respiratorios y respiratorio, incluyendo el ovárico la expresan en bajos niveles el tejido canceroso ovárico suele presentar altos niveles .El cáncer de ovario constituye la cuarta causa de muerte por cáncer en mujeres, hasta el 75% se altamente letal. Por todo esto la necesidad de un marcador bioquímico que nos detectan en fase tardía debido a que suelen presentar una sintomatología vaga e inespecífica ello impide en muchas ocasiones la intervención quirúrgica y por lo tanto resulta una neoplasia ayude en el diagnóstico precoz es de gran importancia.

OBJETIVO:

Estudiar la capacidad de HE4 para diferenciar el cáncer de ovarios de otras patologías relacionadas y en las que hay una elevación inespecífica de otros marcadores tumorales.

MATERIAL Y MÉTODOS:

79 pacientes, 43 diagnosticadas de cáncer de ovario, 28 con otros tipos de cáncer (mama, endometrio y vagina, así como enfermedades benignas relacionadas con el ovario), 7 pacientes presentaban metástasis diseminada y carcinomatosis de origen incierto.

En todos ellas se determinó el antígeno CA 125 por quimioluminiscencia en IMMULITE 2000 (SIEMENS) y el HE4 por electroquimioluminiscencia en COBAS e 411 (ROCHE), en suero. .Se realizaron curvas ROC tomando como positivos todos los casos de cáncer de ovario diagnosticados a través de pruebas de imagen y anatomía patológica, mientras que aquellos que presentaban otro tipo de cáncer o enfermedad benigna se les tomó como negativos, se hicieron curvas ROC de HE4 y CA 125. Se actuó de igual forma para los 7 casos de metástasis Y carcinomatosis generalizada se utilizó el paquete estadístico SPSS 18.0.

RESULTADOS:

La ROC nos mostraba un área bajo la curva de 0.630 para HE4 en cáncer de ovario y para el punto de corte de 84 pmol/L, obteníamos una sensibilidad de 62.8 % para una especificidad de 64.3%, mientras que para CA125 el área bajo la curva era 0.405 y para un punto de corte de 30.9 U/ml la sensibilidad es de 51.2% y la especificidad de 35.7%.

Cuando realizamos los mismos cálculos con las siete pacientes de carcinomatosis y metástasis extendidas por diversos órganos nos encontramos que el área bajo la curva es de 0.806 y 0.908 para HE4 y CA 125 respectivamente con un valor de corte para HE4 de 168.7 pmol/L la sensibilidad es de 85.7% y la especificidad es 82.1%, si para CA125 utilizamos un corte de 74U/ml obtenemos 100% de sensibilidad con una especificidad de 71.4%.

CONCLUSIONES:

A la vista de los resultados, podemos decir, que HE4 discrimina con mayor sensibilidad y especificidad, el cáncer de ovario, frente a patologías de similar sintomatología, que el CA 125,

Se debe tener presente que no se ha hecho diferenciación histológica de las neoplasias ováricas y que el HE4 se eleva en algunas patologías que afectan al endometrio, aún así nos encontramos con una especificidad y sensibilidad aceptable. En los casos de carcinomatosis y metástasis extendidas cualquiera de los dos marcadores ofrece buenos resultados siendo más específico HE4 pero más sensible CA125, en estos casos lo más recomendable es valorar ambos marcadores

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 192

UTILIDAD DE CUATRO MARCADORES BIOQUÍMICOS PARA MONITORIZAR LAS PÉRDIDAS DE MASA ÓSEA DESPUÉS DE LA MENOPAUSIAS

Autor/a/s: Sanchez Mateos Carmen Beatriz;Sastre Garrote Ana Maria;Perez Gonzalez Isabel; Aguadero Marin Maria del Rosario;Marqués García Fernando; Hernández Cerceño Maria Luisa

Centro de trabajo: .HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: Cbeatrizsanchez61@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El péptido amino-terminal del procolágeno tipo 1 (P1NP) y la fosfatasa alcalina ósea (FAO) son dos marcadores procedentes de la actividad de los osteoblastos que aumentan durante el remodelado y formación de tejido óseo, mientras que el telopéptido carboxi terminal del colágeno tipo I (CTX) y la fosfatasa ácida tartrato 5b resistente (FATR 5b) proceden de la actividad de los osteoclastos y aumentan en caso de resorción y destrucción ósea. Todos ellos se encuentran normalmente elevados durante el crecimiento, estables en la vida adulta hasta la menopausia y en edades avanzadas que normalmente conllevan pérdida más o menos acusada de tejido óseo.

OBJETIVO:

Estudio del comportamiento de los cuatro marcadores óseos en una población normal de hombres y mujeres de diferentes edades y de su variabilidad con respecto al sexo, a la edad y a la pérdida fisiológica de masa ósea debida al envejecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se utilizó una población de 124 personas sanas o sin enfermedades crónicas relevantes con una edad comprendida entre 25 y 70 años y con una media de 50 años; la distribución es de por 28 hombres menores de 52 años, 28 hombres mayores de 52 años, 34 mujeres de menos de 52 años y 32 mujeres mayores de 52 años.

Se determinaron p1np y CTX séricos en un autoanalizador ids-isys, por un método de quimioluminiscencia, FAO se lleva a cabo en el mismo sistema analítico pero con un método de enzimoimmunoensayo

(ELISA), FATR 5b se cuantifica en un Personal LAB, todas las pruebas se llevan a cabo con reactivos de ids proporcionados por VITRO. Los cálculos se llevaron a cabo con el paquete estadístico SPSS 18.0.

RESULTADOS:

Los cuatro grupos no presentan una distribución normal para todas las variables estudiadas por lo que se calculan medianas y percentiles (P25-P75) con los siguientes resultados

	Me- diana p1np	Per- cen- tiles 25-75	Me- diana FAO	Per- cen- tiles 25-75	Me- diana CTX	Per- cen- tiles 25-75	Me- diana FATR	Per- cen- tiles 25-75
HOM- BRES<52A- ÑOS	41.4	26.4- 55.6	14.6	11.6- 19.4	0.26	0.17- 0.35	2.4	1.8-2.7
HOM- BRES>52A- ÑOS	29.9	25.1- 39.1	13.9	11.6- 17.4	0.22	0.15- 0.35	2.5	2-3.1
MUJE- RES<52A- ÑOS	34.7	26.5- 48.5	13.7	10.2- 16.7	0.16	0.11- 0.36	1.91	1.37- 1.53
MUJE- RES>52A- ÑOS	41.6	22.1- 57.3	16.7	12.9- 21.8	0.27	0.14- 0.44	1.68	0.95- 2.57

P1np (ng/ml), FAO(mcg/L),CTX (ng/ml) y FATR5b(U/L)

Las mujeres mayores de 52 años nos muestran medianas y percentiles más elevados que el resto de los grupos para P1np, CTX y FAO mientras que FATR5b no varía con la edad sólo con el sexo.

Se llevó a cabo el test de Mann-Whitney como estadístico de contraste obteniendo diferencias significativas entre el grupo de mujeres más jóvenes de 52 años con respecto a las mujeres mayores con respecto a FAO con $p < 0.010$, FAO y FATR es significativamente diferente para el grupo de hombres mayores de 52 años y mujeres mayores de 52 años $p < 0.040$ y $p < 0.011$. Hay que tener presente que esta diferencia se debe a que FATR presenta valores más elevados en los hombres.

El resto de las variables no son significativamente diferentes entre los cuatro grupos con $p > 0.050$.

CONCLUSIONES:

Tres de los marcadores estudiados P1np, CTX y FAO aumentan con la edad en las mujeres coincidiendo con la menopausia, no sucede así en el grupo de los hombres ya que tanto los menores de 52 años como los mayores de esta edad presentan valores muy similares para los cuatro marcadores. Sin embargo solo FAO presenta diferencias significativas en los dos grupos de mujeres y entre los dos sexos en los individuos mayores de 52 años, siendo el marcador óseo de formación de elección para controlar la pérdida de hueso fisiológica en la menopausia, mientras que CTX resulta el marcador de resorción idóneo frente a FATR5b

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 196

VALIDACIÓN METODOLÓGICA DE LA DETERMINACIÓN DE LEVETIRACETAM POR HPLC CON REUTILIZACIÓN DE LA FASE MÓVIL MEDIANTE RECIRCULACIÓN

Autor/a/s: Ana Mª Ortega de Francisco, Manuela Martín Gómez, Mª Angustias Vizcaya Horno, Mª del Pilar Gutiérrez Ramos, Ana Mª Barbé Crespo, Mª Verónica Soto Corral

Centro de trabajo: Hospital Universitario 12 de Octubre

Localidad: Madrid

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El levetiracetam (Keppra®) es un fármaco anticonvulsivo de última generación, indicado en monoterapia o como coadyuvante en el tratamiento de ataques parciales con o sin generalización secundaria. La monitorización terapéutica del fármaco puede ser útil en ciertos pacientes, permitiendo establecer si se ha alcanzado la concentración óptima de fármaco, evaluar el cumplimiento terapéutico o evaluar una posible sobredosis.

OBJETIVO:

Validar metodológicamente la determinación de levetiracetam mediante HPLC cuando se reutiliza la fase móvil por recirculación, con el fin de reducir el consumo de eluyente en el Laboratorio de Fármacos.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La determinación de levetiracetam se realizó mediante preparación de la muestra por extracción en fase sólida, seguida de HPLC con columna de fase reversa, elución isocrática y detección UV. Se usó un estándar interno para asegurar la exactitud en la determinación. El análisis se realizó en un cromatógrafo de Agilent Technologies (modelo 1220 Infinity LC), empleando reactivos de Chromsystems (distribuidos por Teknokroma).

En total se analizaron 17 series de muestras de pacientes (n=10), incluyendo en cada serie 1 calibrador, 2 niveles de control de calidad interno, las muestras, y nuevamente los mismos 2 niveles de control de calidad al final de la serie. Dado que la distribución de las diferencias entre los controles no siguió una distribución normal, los resultados se analizaron mediante la prueba de Wilcoxon utilizando el programa SPSS Statistics versión 22 de IBM.

RESULTADOS:

Estadísticos de prueba

	Controles_rep1 - Controles_1	Controles_rep2 - Controles_2
Z	-1,870b	-0,379c
Sig. asintótica (bilateral)	0,061	0,705

a. Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo b. Se basa en rangos positivos. c. Se basa en rangos negativos

CONCLUSIONES:

No se encontraron diferencias significativas entre las determinaciones de los controles al inicio y al final de la secuencia. La reutilización de la fase móvil mediante recirculación no afecta a la determinación de los niveles de levetiracetam, lo que permite reducir el consumo de eluyente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 197

ESTUDIO TRIPLE DE CONCORDANCIA EN LA DETERMINACIÓN DEL CORTISOL LIBRE URINARIO

Autor/a/s: FERNÁNDEZ MARTÍNEZ, MARIA MERCEDES; HIRALDO PATIÑO, JUAN ANTONIO; GEA LOPEZ FERNANDA; HERNÁNDEZ BENITO, DEMETRIA; BOYERO SIERRA, MARIA CONSUELO

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: mercesofi@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los métodos inmunoquímicos para determinación analítica están basados en la afinidad del anticuerpo del reactivo por el analito. Una afinidad alta conlleva una especificidad alta de la técnica. Una afinidad baja puede conllevar interferencias con otros compuestos presentes en la muestra. Esto puede dar lugar a falsos positivos o, en el mejor de los casos, a una infravaloración analítica. Es conocido que en la orina se excretan múltiples compuestos esteroideos intermedios y finales, producto del catabolismo de diferentes compuestos derivados del ciclopentanoperhidrofenantreno.

OBJETIVOS:

Evaluar la concordancia analítica de 3 métodos inmunoquímicos diferentes para determinación de cortisol libre urinario, en muestras de orina de 24 h, sin realización de tratamiento extractivo previo. Estas técnicas son: 1) Inmunoquimioluminiscencia (Cobas 8000 Roche®), 2) quimioluminiscencia (IMMULITE 1000 SIEMENS®) y 3) ELISA (personal LAB-ADALIS DRG-diagnostics®).

MATERIAL Y MÉTODOS:

Muestras de orina de 24h (n=84). Determinación cortisol libre urinario con las 3 técnicas con sus respectivos reactivos:

- 1) Cobas 8000: I-ECLIA, ensayo competitivo, duración 18 min. Reactivo 1 (R1): anticuerpo policlonal biotinilado anti-cortisol (ovino) 90 ng/mL en ácido 2-morfolino-etanosulfónico (MES) 100mM, pH 6 conservante. Sensibilidad 0.5 nM (0,018 ug/dL). Límite superior de detección 1750 nM (63,4 ug/dL). Sin tratamiento preanalítico.
- 2) IMMULITE 1000 SIEMENS: quimioluminiscencia, competitiva en fase sólida con 1 ciclo de incubación de 30 min. Se utilizan unidades de análisis de cortisol (LC01) para cada determinación. Cada ud. Contiene una bola recubierta con anticuerpos policlonales de conejo. El anticuerpo es altamente específico para cortisol. Sensibilidad 0,2 ug/dL.
- 3) personal LAB-ADALIS: ELISA. Método competitivo inmunoenzimático colorimétrico. El reactivo es anticuerpo anti cortisol absorbido a microplaca. Rango de detección 0,295 ug/dL a 50 ug/dL.

ESTADÍSTICA:

Se realiza box-plot para cada analizador. Se obtiene mediana, media, SD y cuartiles. Se realiza prueba de normalidad K-S directa. Se realiza estudio de concordancia con la aplicación de método de regresión no paramétrica Passing-Bablok (PB) para cada pareja de analizadores con IC de 95% para todos los casos (Se aplica por duplicado a cada pareja de analizadores, siendo cada analizador en un caso variable independiente (X) y en otro variable independiente (Y)).

RESULTADOS:

Los analizadores IMMULITE 1000 Y ELISA muestran valores medios y SD similares en torno a 7,67+-4,55 (ver tabla), mientras que Cobas8000 se incrementa hasta una media y SD de 31,4+-19,52, incrementando su valor medio respecto a los otros dos analizadores en 4,09 veces. La mediana marca el valor donde se sitúan por arriba y por abajo el 50% de los resultados respectivamente, siendo similar para IMMULITE 1000 Y ELISA en torno a 6,55 y siendo para Cobas8000 de 27,6.

Las ecuaciones generadas por el método PB admiten concordancia para todas las combinaciones posibles entre los analizadores IMMULITE1000 Y ELISA. PB No admite concordancia entre Cobas8000 y cualquiera de los otros dos analizadores.

CONCLUSIONES:

Las interferencias en las muestras no permiten el análisis de cortisol en cobas8000 sin tratamiento extractivo previo. Los otros dos métodos muestran resultados similares e intercambiables entre sí. IMMULITE

LITE 1000 y ELISA son técnicas adecuadas para la determinación de cortisol libre urinario.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 200

RECOMENDACIONES PARA LA DETERMINACION DE PROCALCITONINA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS.

Autor/a/s: Díaz Campos ,Jesus María ; Rivera Gentil , Rocio ;Berral Baena , Francisca ; González Pacheco , Antonio

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena

Localidad: (Sevilla)

Correo electrónico del primer firmante: panperdio@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCION:

La procalcitonina (PCT) es la proteína presente en el suero de pacientes con sepsis, está considerada como un biomarcador precoz que aumenta específicamente durante la infección y sepsis bacteriana.

Esta proteína también se encuentra elevada en otros procesos de tipo inflamatorios como infecciones víricas, grandes quemaduras y determinados tipos de neoplasias, de ahí que en la actualidad esté incluida en nuestra cartera de servicios y que su determinación sea clave en la detección, evolución y tratamiento de las infecciones y sepsis bacterianas.

El principal estímulo en la detección de procalcitonina es la presencia de endotoxinas en sangre, su grado de alteración es dependiente de la gravedad del cuadro clínico.

Existen recomendaciones para su determinación como cuando se requiere apoyo diagnóstico en estados de respuesta inflamatoria sistémica, monitorización en la evolución y tratamiento de enfermedades bacterianas, es el instrumento diagnóstico de fiebre de origen desconocido, etc.

Los valores normales de procalcitonina en sangre son menos de 0,5up/ml (picogramos), valores mayores de 0,5 up/ml son considerados anormales, mayores a 5up/ml son considerados niveles muy altos, determinaciones mayores de 10 up/ml son indicativos de sepsis grave.

Existe un protocolo implantado para el uso correcto o adecuado de la procalcitonina en el laboratorio de Urgencias del Virgen Macarena y Virgen del Rocío.

OBJETIVOS:

- El estudio descriptivo de los datos obtenidos durante el 2014 para el diagnóstico

Se realizó un estudio descriptivo de los datos obtenidos durante el año 2014 para diagnóstico de infección en inflamación sistémica., diagnóstico diferencial en enfermedades inflamatorias y fiebre de origen desconocido la monitorización del tratamiento y curso de infecciones bacterianas, diagnóstico diferencial meningitis bacteriana y viral en recién nacidos, niños y adultos, rechazo agudo e infección post-transplante. Identificación de infección bacteriana en trastornos autoinmunes con síntomas de inflamación aguda. Pacientes con ventilación mecánica y estancias prolongadas en UCI. Información pronóstica y manejo clínico en sepsis, shock séptico y fallo multiorgánico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En el servicio de urgencias del laboratorio se utiliza un elemento analítico modular, el autoanalizador Cobas 6000 de Roche. (inmuno análisis

cuantitativo). Centrífuga de tubos. Tubos con gel para la obtención de suero (tapón amarillo, rojo ó marrón).

Hoja de interconsulta para solicitar la determinación de procalcitonina y Sistema informático.

RESULTADOS:

De un total de 100 pacientes estudiados resultó que 85 tenían niveles de procalcitonina superiores a 0,5 up/ml, 62 de los 85 presentaron valores superiores a 5 up/ml (correspondientes a pacientes ingresados en UCI. con diagnóstico de sepsis bacteriana) y 2 de ellos valores superiores a 10 up/ml compatibles con shock séptico.

CONCLUSIONES:

Con todo lo anterior se pone de manifiesto la importancia de la determinación de procalcitonina como parámetro indispensable, aunque no determinante por sí sólo, en el diagnóstico, evolución y tratamiento de enfermedades bacterianas, sepsis y otros procesos inflamatorios.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 208

PROCALCITONINA, PROTEINA C REACTIVA Y LACTATO RELACIONADOS CON BACTERIEMIA

Autor/a/s: Mª DEL ROSARIO MEJIAS GARCIA, SOLEDAD TORRES ULINES, CARLOTA Mª GOMEZ ROMAN

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: mrm.8884@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las manifestaciones clínicas de las infecciones bacterianas gram negativas (gram -)Y gram positivas (gram +) son similares por lo que los parámetros bioquímicos nos pueden servir como una guía para su diagnóstico precoz. El objetivo del estudio fue evaluar la asociación entre los niveles de procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR) y Lactato con la etiología de las bacteriemias.

OBJETIVOS:

Relacionar los niveles de PCT y PCR y Lactato para determinar la etiología de una bacteriemia.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron los niveles en suero de PCT y PCR y Lactato de pacientes con hemocultivo positivo. La Procalcitonina se determino mediante inmunoensayo, con valores de referencia entre 0 y 0.5 mg/ ml, el Lactato en siemens mediante método enzimático con valores de normalidad entre 0.4 y 2.0 mmol y la Proteína C reactiva en Siemens mediante inmunoensayo turbidimétrico siendo los valores de referencia entre 0 y 0.5 mg/ dLos hemocultivos se han realizado.

RESULTADO:

EL estudio incluyo 80 pacientes, con edad media de 64.5 años (rango intercuartil) RI : 53-71 veintiocho pacientes tenían bacteriemia debido a gram- y 49 fueron gram+. Las medidas entre los gram- y gram+ mostrando niveles de PCR significativamente mayores en los gram- sin embargo en los gram+ fueron significativamente mas patológicos los niveles de lactato. E cuanto a la etiología escherichia coli tuvo los valores de PCT mas elevados, y los niveles de Lactato fueron mas altos en el caso de streptococcus pneumoniae.

CONCLUSIONES:

La PCT presenta valores mas elevados en gram- y el lactato niveles mas elevados en gram+ . La PCT y el LACTATO pueden ser marcadores precoces para diferenciar la etiología de una bacteremia

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 209

UTILIDAD DE LA DETERMINACION SIMULTANEA DE PCR Y VSG COMO MARCADORES DE INFLAMACIÓN

Autor/a/s: Herrero Berrocal María, Abac Gómez Rebeca, Llurva Galán Sandra, Chincolla Martínez Carolina, Elorza Méndez Silvia, Perez Barrios Clara, Herranz Maganto, María, Pulido Letran Ignacio

Centro de trabajo: Hospital Universitario Puerta de Hierro – Majadahonda.

Localidad: Majadahonda

Correo electrónico del primer firmante: mariahb26@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En los últimos años uno de los objetivos del laboratorio consiste en adecuar la demanda analítica, lo que permite reducir costes y tiempo, evitando pruebas innecesarias.

Para el estudio de los procesos inflamatorios tradicionalmente se han utilizado reactantes de fase aguda como la Proteína C Reactiva (PCR) y Velocidad de Sedimentación Globular (VSG). La PCR tiene un aumento más precoz (se inicia a las 4-6 horas) y más intenso que la velocidad de sedimentación; con la recuperación de la enfermedad, la desaparición de la PCR también precede al regreso de la VSG a los valores normales. En general, su evolución es paralela a la de la VSG, pero la PCR no está influenciada por la anemia, policitemia, esferocitosis, insuficiencia cardiaca congestiva o hipergammaglobulinemia, situaciones en las que existe un aumento de VSG.

OBJETIVO:

Evaluar la utilidad de medir ambos parámetros para el diagnóstico de la enfermedad inflamatoria frente a la determinación única de PCR.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio retrospectivo de 112 pacientes a los que se solicitaba PCR y VSG. La PCR se cuantificó mediante Inmunoensayo en ADVIA 2400 (SIEMENS) y la VSG siguiendo el método WESTERGREN en analizador VES_ MATIC CUBE 200 (A. MENARINI DIAGNOSTIC).

Los valores de referencia utilizados para la PCR son <10 mg/L, y para a VSG son para mujeres hasta 23mm/h y para hombres hasta 13 mm/h.

El estudio estadístico se realizó con el programa MedCalc.

RESULTADO:

Los dos métodos mostraron una correlación baja aunque significativa ($r=0.46$; $p<0.001$)

De los 112 pacientes analizados, el 84 % mostraron un resultado concordante entre las dos pruebas. No se observaron diferencia entre mujeres y hombres aunque sus valores de referencia para la VSG son diferentes.

La sensibilidad de la VSG frente a la PCR fue de un 70 %, y la especificidad de un 90%.

	PCR+	PCR-	
VSG+	23	8	31
VSG-	10	71	81
	33	79	

CONCLUSIONES:

En base a los resultados obtenidos, el uso simultáneo de ambos marcadores de inflamación no está justificado. Teniendo en cuenta este estudio y los datos bibliográficos recopilados, recomendamos el uso de PCR como marcador principal limitando así el uso de la VSG.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 211

LA LEPTINA DURANTE EL EMBARAZO

Autor/a/s: MARÍA FERNANDA GEA LÓPEZ, PAULA ROMERO GARCÍA, ANA MARÍA SASTRE GARROTE, MELANIA HERNÁNDEZ BENITO, MARÍA FELICIDAD MARTÍN ANDRES, FERNANDO MARQUES GARCÍA, MARÍA LUISA HERNÁNDEZ CERCEÑO.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: fernandagealopez@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La leptina es una hormona proteica compuesta por 167 aminoácidos y codificada por el gen ob. Su síntesis ocurre principalmente en el tejido adiposo, aunque también en los ovarios y placenta.

Durante el embarazo su concentración se ve sometida a cambios, debido no sólo al aumento de peso de la madre sino también al desarrollo ponderal del feto.

OBJETIVO:

Valoración del comportamiento de la leptina durante el primer, segundo y tercer trimestre del embarazo en tres grupos de mujeres de pesos diferentes y establecer los niveles en suero para los tres grupos.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se estudian un total de 74 mujeres gestantes de las que conocemos su peso en la semana 10, a las cuales determinamos la leptina sérica en la semana 10 (lep 1), en la semana 20 (lep 2), y en la semana 35 (lep 3).

La muestra en función del peso se divide en tres grupos: grupo I, 17 mujeres de peso bajo (<55 Kg), grupo II, 37 mujeres de peso normal (55-72Kg) y grupo III, 19 mujeres de peso alto (>72Kg).

La leptina se determinó por enzoinmunoanálisis (Mediagnost, VITRO Diagnostic). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 18 (IBM).

RESULTADOS.

La población sólo sigue una distribución normal en algunos grupos, según el test Kolmogorov-Smirnov, por lo cual se han utilizado medianas para calcular los valores normales de leptina en cada etapa del embarazo y los percentiles de 5 a 90 como límites de normalidad.

Entre las leptinas del 1º trimestre y el 2º, encontramos diferencias significativas ($p<0.050$); mientras que en las del 3º trimestre no vemos cambios significativos ($p>0.050$).

GRUPO GES-TANTE	PESO Kg	ME-DIANA LEP1 (mg/dl)	P5-P95	ME-DIANA LEP2 (mg/dl)	P5-P95	ME-DIANA LEP3 (mg/dl)	P5-P95
GRUPO I (peso bajo)	<55	15	6.72-25.28	23.9	7.76-39.78	18.7	7.76-38.72
GRUPO II (peso normal)	55-72	19	10.92-35.9	22.3	12.2-72.04	22.1	9.18-60.52
GRUPO III (peso alto)	>72	23	19.5-70.2	67.2	26.2-85.5	49.3	21.4-85.7

CONCLUSIONES:

En los 3 grupos el nivel de la leptina en suero se eleva significativamente durante el 2º trimestre y disminuye de forma paulatina durante el 3º trimestre hasta el parto.

Los incrementos de leptina durante el embarazo pueden predisponer a la obesidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 213

DETERMINACIÓN DE DROGAS DE ABUSO EN EL HOSPITAL GUTIÉRREZ ORTEGA.

Autor/a/s: Díaz Vico, Ramona, Calderón Camacho, María Vicenta.

Centro de trabajo: Laboratorio de Análisis Clínicos (Lab.Urgencias) Hospital Gutiérrez Ortega

Localidad: VALDEPEÑAS.

Correo electrónico del primer firmante: ramonadiaz57@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El consumo de drogas y la drogodependencia constituyen un problema de salud pública cuyos efectos sobre el desarrollo y la seguridad son graves. Se calcula que unos 205 millones de personas consumen drogas ilícitas en el mundo, de las que unos 25 millones, tienen dependencia. El consumo de drogas es uno de los 20 factores principales de riesgo para la salud en todo el mundo y uno de los 10 factores principales en los países desarrollados.

El último informe del Observatorio Español sobre drogas indica que el cannabis es la sustancia con mayor prevalencia de consumo alguna vez en la vida (27,7%), seguida de la cocaína en polvo (8,8%), La evolución más destacable se da en los tranquilizantes, dado que sus prevalencias de consumo aumentan sustancialmente en todos los indicadores temporales considerados.

OBJETIVO:

El objetivo de nuestro estudio es observar si el consumo en nuestra zona se ajusta a la tendencia nacional observada en el último informe del Observatorio Español sobre drogas, en el año 2014.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Hemos realizado una revisión de todas las determinaciones de drogas en orina solicitadas en nuestro laboratorio durante el año 2014, para conocer la epidemiología de consumo en la población que atiende nuestro Hospital

Nuestro laboratorio utiliza un panel de screening de 10 drogas (TOX/SEE Drug Screen Test de BIO-RAD), para determinar mediante inmu-

noensayo cromatográfico de flujo lateral, para la detección cualitativa de las siguientes drogas y sus metabolitos en orina: Anfetaminas, Benzodiacepinas, Cocaína,, Metadona, Opiáceos, Metanfetamina, Metilendioximetanfetamina (MDMA), Fenciclidina, (PCP), Tetrahidrocannabis (THC) y Barbitúricos.

Durante el año 2014 del total de peticiones recibidas hemos seleccionado 296, que corresponden a solicitudes de drogas de abuso en orina en pacientes entre 15 y 64 años de edad, de los cuales 230 son hombres y 66 son mujeres. La población estudiada tiene una media de edad de 34 años de edad y una moda de 32. Las peticiones recibidas proceden de atención primaria, urgencias y pacientes hospitalizados.

RESULTADOS:

Hemos obtenido un consumo de cannabis de 29,05%, seguido de un 12.83% de consumo de cocaína. Hay un elevado número de positivos a benzodiacepinas (38,17%), debido a que en urgencias se suele administrar antes del envío de las muestras de orina. El consumo de metadona se sitúa en un 23,64% que responden principalmente al seguimiento de los pacientes de primaria en proceso de desintoxicación. Los resultados de la determinación del consumo de opiáceos están un 3,71%, seguidos de metanfetaminas con un 1,68%, Metilendioximetanfetamina (MDMA) con 1,01%, y barbitúricos y anfetaminas con un 0,33%.

CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos están en concordancia con las conclusiones obtenidas en el último informe del Observatorio Español De Drogas y Toxicomanías, por lo que nuestra zona se ajusta a la tendencia nacional en el consumo de drogas de abuso.

No se ha encontrado ningún positivo a Fenciclidina en todo el año por lo que es una prueba que podíamos eliminar del perfil ya que la epidemiología de consumo de nuestra zona nos demuestra que esta droga no se utiliza aquí.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 214

AMPLIACIONES Y EFECTIVIDAD DE DETERMINACIONES EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

Autor/a/s: MARIA DEL MAR ALONSO DURAN; Mª DEL MAR RUIZ GONZALEZ.

Centro de trabajo: BIOQUIMICA, HOSPITAL VIRGEN MARCARENA

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: maralonso@live.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En la actualidad diaria del laboratorio de urgencias es frecuente la solicitud de ampliación de parámetros de algunas muestra, determinadas por la evolución clínica del paciente o la aparición de nuevos síntomas del paciente.

Esto repercute alargando los tiempos de respuesta exigidos en el laboratorio de urgencias.

OBJETIVOS:

Hacer un estudio estadístico de los diferentes parámetros de su volumen, así como la efectividad de estas pruebas solicitadas posteriormente.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Según un estudio retrospectivo se registraron durante cuatro meses las peticiones analíticas que se solicitaban una vez que el informe de resultados de la solicitud inicial estaba completo. De estas nuevas peticiones de parámetros destacan las siguientes: Enzimas Hepáticas, Proteína C Reactiva, Troponina, Lactato Deshidrogenasa, Creatina Quinasa, estas ampliaciones son solicitadas por teléfono.

RESULTADOS:

En este estudio de adecuación de ampliación post-analítica de parámetros, conforme al resultado obtenido, registraron 520 ampliaciones con los siguientes resultados:

-Proteína C Reactiva, se ampliaron 200 de las cuales 168 fueron positivas (84%).

-Enzimas Hepáticas fueron 56 de las cuales 24 positivas (42%).

-Troponinas, 90 ampliaciones de las cuales 10 positivas (11%).

-Lactato Deshidrogenasas fueron 21 y 15 de ellas positivas (71%).

-Creatina Quinasa 73 ampliaciones, con una positividad de 43 de ellas (58%), pero solo con necesidad de ampliar la fracción de MB a 33 de ellas.

Los resultados más patológicos fueron las Enzimas Hepáticas y Proteína C Reactiva.

Se aplicó un cociente de efectividad para cada determinación con los mejores resultados para Proteína C Reactiva (0,70), Lactato Deshidrogenasa (0.59), y el peor resultado para la determinación de la Troponina (-5.30).

CONCLUSIONES:

Este estudio ha permitido objetivar la utilidad y el rendimiento de la ampliación de pruebas en el laboratorio de urgencias. Los resultados ponen de manifiesto que en ocasiones esta práctica responde a la ya conocida medicina defensiva.

GENÉTICA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 023

COMBINACIÓN DE PATRONES DE METABOLIZACIÓN DE LOS GENES CYP2D6 Y CYP2C19 EN UN PACIENTE CON TRIADA DEL AC. ACETIL SALICÍLICO

Autor/a/s: Carrero Baz, Pilar ; Crego Martín, Amador; García Berrocal, Belén; Marcos Vadillo, Elena; Isidoro García, María

Centro de trabajo: Centro Asistencial Universitario de Salamanca

Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: pcarrerob@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La Farmacogenética es el estudio de la respuesta farmacológica del individuo según el genotipo, lo que implica el estudio del papel de la herencia en la variación individual de la respuesta farmacológica, tanto en lo que se refiere a eficacia en la respuesta como a efectos adversos. Es un término utilizado para referirse al estudio de los genes relacionados con el metabolismo de los fármacos entre los que se encuentran los genes CYP2D6 y CYP2C19. Los distintos alelos de los genes CYP2D6 y CYP2C19 predicen una menor o mayor eficiencia metabolizando los fármacos dependiendo de la combinación génica que cada individuo haya heredado. Los metabolizadores eficientes presentan alelos que codifican enzimas completamente funcionales; los metabolizadores lentos poseen variantes no funcionales en ambos alelos; mientras que los metabolizadores ultrarrápidos poseen copias extra de estos alelos y expresan más enzima de lo normal. Hay al menos 90 variantes diferentes del gen CYP2D6, las más frecuentes son los alelos *1 y *2. Para el gen CYP2C19 se han descrito 20 variantes. La variante más frecuente de CYP2C19 es el alelo *1, mientras que las variantes más comunes que provocan alteraciones en el metabolismo detoxificador son 2C19*2 y 2C19*3, y dan lugar a un patrón metabolizador lento. Sin embargo, la variante 2C19*17 da lugar a un patrón metabolizador ultrarrápido. El síndrome de ASA Triada es una enfermedad con tres manifestaciones, de ahí su nombre: patología nasal (poliposis), bronquial y sensibilidad a algún medicamento como el caso presentado a antiinflamatorios no esteroideos como el ácido acetilsalicílico.

OBJETIVO:

Estudio de patrones de metabolización de CYP2D6 y CYP2C19 en un paciente con Asa Triada tratado con ac. acetil salicílico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Paciente varón 71 años diagnosticado de complejo de Asa Triada (poliposis, asma e intolerancia a aspirina) con cardiopatía isquémica. El estudio se realizó mediante el sistema Amplichip CYP450 (ROCHE). Tras la extracción del DNA a partir de 1ml de sangre total (EDTA) con el sistema MagNA Pure Compact® (ROCHE), se realizó una amplificación mediante PCR. Los amplicones son fragmentados y posteriormente marcados con Biotina. La hibridación se realizó en la estación fluidica GeneChip 450Dx de Affymetrix. El Microchip se trasladó posteriormente al Scanner GeneChip 3000Dx de Affymetrix donde se realizó la exploración con láser del patrón de hibridación. El análisis mediante un programa bioinformático permitió determinar la información genética específica de la muestra y la posterior predicción

fenotípica. Para la identificación del patrón desconocido se empleó la PCR-XL denominada Long range que genera fragmentos largos que son posteriormente purificados y secuenciados en un secuenciador capilar 3730 (LifeSciences), en el centro de Referencia de farmacología Clínica e Innovación de Kansas (Dra. A. Gaedigk).

RESULTADOS:

El análisis molecular del gen CYP2D6 resultó ser un genotipo con patrón desconocido no identificable con el método de amplichip. El estudio mediante Long range permitió identificar un genotipo compuesto por los alelos *68+*4 combinado con *77+*2A. La presencia de un alelo *2A predice una metabolización eficiente para este gen. El análisis del genotipo de CYP2C19 permitió la identificación de un patrón *1/*17 que se considera de metabolización ultrarrápida.

CONCLUSIONES:

En este estudio se identifica un patrón para CYP2D6 por primera vez a nivel internacional. La predicción de metabolización ultrarrápida para CYP2C19 nos alerta sobre la posibilidad de desarrollar efectos adversos tras el consumo de fármacos metabolizados por esta vía. Además el ac. acetil salicílico puede actuar como inductor de metabolización sobre CYP2C19 incrementando el riesgo de efectos adversos en un paciente que de por sí presenta ya intolerancia a este fármaco según su diagnóstico de ASA triada, lo que se debe tener en cuenta en su prescripción farmacológica.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 024

SÍNDROME DE MCARDLE (GLUCOGENOSIS TIPO V). CARACTERIZACIÓN MOLECULAR MEDIANTE SECUENCIACIÓN CAPILAR

Autor/a/s: Carrero Baz, Pilar ; Crego Martín, Amador; García Berrocal, Belén; Marcos Vadillo, Elena; Isidoro García, María

Centro de trabajo: Centro Asistencial Universitario de Salamanca

Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: pcarrerob@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El Síndrome de McArdle (Glucogénesis tipo V) es una miopatía de origen metabólico producida por un déficit de la enzima miofosforilasa alfa-1,4-glucan ortofosfato glucosiltransferasa, que interviene en la degradación del glucógeno en ácido láctico. El déficit de esta enzima provoca por tanto un acumulo de glucógeno en el músculo dando lugar a debilidad muscular, calambres, dolor y disminución de la capacidad de hacer ejercicio. Aproximadamente el 50% de los individuos cursa con episodios de mioglobinuria que pueden dar lugar a fallo renal agudo. Se suele manifestar en la juventud, a partir de los 20 años de edad, aunque en ciertos casos aparece sintomatología desde la infancia. El Síndrome de McArdle está causado por una alteración en el gen PYGM (Glycogen Phosphorylase Muscle) que codifica la enzima miofosforilasa. Este gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 11 (11q13). Una de sus mutaciones más frecuentes es p.R50X c.148C>T (rs116987552) puede representar hasta un 50% de los pacientes en la población caucásica. El cambio de C>T en

posición 148 del exón 1 del gen PYGM es una mutación non sense que genera un codón de parada y por lo tanto una proteína truncada en la posición 50. El patrón de herencia de esta enfermedad es autosómico recesivo por lo que los antecedentes familiares del síndrome de McArdle incrementan el riesgo.

OBJETIVO:

Analizar la mutación p.R50X del gen PYGM asociada a Síndrome de McArdle en un paciente con clínica compatible y antecedentes familiares.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se trata de un varón de 44 años con mialgias y calambres desde la infancia y últimamente debilidad y rigidez de manos, que presenta un aumento importante de los niveles de CK (creatin-quinasa) 1621 U/L en reposo, valor normal en varones 51 - 294 U/L.

Entre los antecedentes familiares destaca una hermana y dos primos por línea materna diagnosticados de Síndrome de McArdle portadores de la mutación nonsense (R50X) en heterocigosis.

Se realiza la extracción del DNA a partir de 1ml de sangre total (EDTA) con el sistema MagNAPure Compact® (ROCHE), y se diseñan los primers (forward/reverse) adecuados mediante los programas Bacon Designer y Primer Free para realizar la PCR en un termociclador Gene Amp PCR System 9700 de Applied Biosystem. Posteriormente se comprueba mediante gel de agarosa al 2% la banda correspondientes al fragmento amplificado de 386 pb. Tras la purificación del producto de PCR con 1ul de EXOsap se preparan las muestras para la Secuenciación por método capilar de Sanger empleando un secuenciador automático Genetic Analyzer 3130XL, Applied Biosystems.

RESULTADOS:

Tras el análisis bioinformático de las secuencias se comprueba en el cromatograma que el paciente presenta un cambio de citosina por timina en la posición 148 en uno de los alelos. Por lo tanto el varón motivo de nuestro estudio es portador de la mutación p.R50X en heterocigosis.

CONCLUSIONES:

La mutación p.R50X se ha identificado hasta en el 50% de los pacientes afectados de enfermedad de McArdle de origen caucásico. El patrón de herencia de esta enfermedad se describe como autosómico recesivo por lo que la presencia de un solo alelo no sería suficiente para manifestar la enfermedad. Sin embargo, esta enfermedad es muy heterogénea y se han identificado diversos pacientes portadores de la mutación en heterocigosis. Esto puede ser debido a que los pacientes sean portadores de otras mutaciones no identificadas o que este gen esté sometido a otros sistemas de regulación. La determinación del gen PYGM resulta de gran ayuda al facultativo en la orientación diagnóstica del Síndrome de McArdle y permite evitar el empleo de técnicas más invasivas como la biopsia muscular.

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cáncer de mama de tipo hereditario representa aproximadamente el 3% de todos los cánceres de mama. De estos aproximadamente el 1% tienen mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA2 y la posibilidad de encontrar una mutación depende mucho de la estructura familiar. Recientemente se ha visto que las pacientes jóvenes con tumor triple negativo tienen mayor frecuencia de mutaciones en BRCA1, incluyéndolas como criterios de selección para el estudio de estos genes.

OBJETIVO:

Estudio de la prevalencia de mutaciones en BRCA1 y BRCA2 en pacientes jóvenes con cáncer de mama triple negativo

MÉTODOS:

Se seleccionaron pacientes con cáncer de mama menores de 35 años con tumor triple negativo y sin historia familiar previa de cáncer de mama y/o de ovario.

El estudio de BRCA1 y BRCA2 se llevó a cabo por HRM (Curvas de Melting de alta resolución) como técnica de screening. Las muestras con curvas que presentaron un patrón de desnaturalización anormal fueron secuenciadas por PCR (método de Sanger) y corridas en un secuenciador ABI 3130. El electroferograma fue analizado por el software DNA Sequencing analysis (Life-Technologies)

RESULTADOS:

Se han incluido un total de 341 familias, de las cuales 166 fueron informativas y 99 no informativas. La prevalencia de mutaciones en BRCA fue de 7.12% (4.1% para BRCA1 y 3.02 para BRCA2). Las familias informativas presentaron una prevalencia de mutaciones mayor que las no informativas siendo esta diferencia estadísticamente significativa (13.4% frente a 4.84, $p < 0.01$). No se encontraron diferencias en la prevalencia en cuanto a la edad de diagnóstico de las pacientes (30-35 frente a < 30 años). Las pacientes con edades menores de 30 años presentan más mutaciones en BRCA1 que en BRCA2.

En nuestra población de estudio tenemos un 16.6% de tumores triple negativos ($n=61$) y estos presentan una mayor prevalencia de mutaciones en BRCA1. Por otro lado los tumores receptores de estrógenos positivos presentan mayor prevalencia de mutaciones en BRCA2.

CONCLUSIONES:

La estructura familiar ha sido validada en la práctica clínica como una herramienta útil para predecir el estatus mutacional de BRCA en pacientes jóvenes con cáncer de mama. La baja prevalencia de mutaciones en familias no informativas no justifica el estudio de BRCA en ellas. Los tumores triple negativos predicen las mutaciones en BRCA1, este hecho justifica el estudio genético de BRCA en estas pacientes. La prevalencia de mutaciones en BRCA en tumores receptor de estrógeno positivos y familias informativas es muy baja por lo tanto el estudio genético en estas familias debe ser individualizado cuidadosamente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 039

PREVALENCIA DE MUTACIONES EN BRCA1 Y BRCA2 EN PACIENTES JOVENES DE CÁNCER DE MAMA: RELACIÓN CON LA ESTRUCTURA FAMILIAR Y EL FENOTIPO TUMORAL

Autor/a/s: Paula Diaque, Jon Zuga, Alicia Tosar, Pedro Perez-Segura, Miguel de la Hoya y Tinidad Caldés

Centro de trabajo: Hospital Clinico San Carlos

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: paula.diaque@salud.madrid.org

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 068

IMPLEMENTACIÓN DE SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN (NGS) PARA LA SECUENCIACIÓN DE PANELES DE GENES CON RELEVANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE TUMORES

Autor/a/s: Ricard Isanta, Alba Roset, Eva Fernandez, Eva Gonzalez y Pedro Jares

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las tecnologías de alto rendimiento y especialmente la secuenciación de nueva generación (NGS, acrónimo de Next Generation Sequencing) han acelerado la investigación genómica acercándonos al concepto de Medicina Personalizada. La NGS, en parte debido a la reducción de los costes asociados, se está convirtiendo en una realidad en la práctica clínica rutinaria. A pesar del potencial de esta tecnología, hoy por hoy, la aplicación diagnóstica más compatible con la rutina es el análisis de paneles de genes, especialmente en el estudio de las neoplasias. La secuenciación mediante NGS de genes relevantes en cáncer permite detectar de una forma específica variantes génicas de forma rápida, al reducir el tiempo de análisis y aumentar el número de genes estudiados en comparación con la metodología de secuenciación Sanger aplicada en la rutina asistencial.

OBJETIVO:

Implementar el flujo de trabajo para la secuenciación de paneles de genes mediante la tecnología AmpliSeq y el secuenciador PGM, y evaluar su utilización rutinaria en el estudio de paneles de genes con utilidad en el diagnóstico de neoplasias.

METODOLOGÍA:

Se han utilizado dos paneles de genes, uno específico para el estudio de las leucemias mieloides agudas (Ion AmpliSeq AML Cancer Research Panel, 19 genes y 237 amplicones) y otro panel con utilidad en el estudio de tumores sólidos (Cancer Hotspot Panel, 207 amplicones correspondientes a 50 oncogenes y genes supresores). El DNA fue cuantificado mediante fluorescencia (Qubit). Las librerías se generaron con la tecnología AmpliSeq de Applied. Las muestras fueron marcadas con barcodes específicos (Ion AmpliSeq Library utilizando el kit Ion Express Barcode Adapters) para poder ser secuenciadas en grupos. Tras la generación de las librerías se procedió a la amplificación clonal mediante PCR en emulsión (Ion One Touch). Las librerías enriquecidas fueron secuenciadas con el Ion Torrent PGM de Life Technologies utilizando chips 316 v2. Con el panel LMA se secuenciaron 3 muestras por chip y en el caso del panel de tumores sólidos se secuenciaron 8 muestras por chip. El análisis de los resultados se realizó con las aplicaciones Torrent Browser y el IonReporter de Life Technologies.

En la implementación del panel de AML se utilizó una serie de muestras de AML (n=12) en la que se conocía el estado mutacional, analizado por Sanger, de genes relevantes en AML (FLT3, NPM1 y CEBPA). Seis muestras tenían mutación en FLT3 (n=1), NPM1 (n=1) y CEBPA (n=4). Otras seis muestras no tenían mutación en ninguno de estos tres genes.

En la implementación del panel de tumores sólidos se analizaron 10 muestras fijadas en formol e incluidas en parafina con mutaciones conocidas en EGFR (n=3), BRAF (n=1), K-RAS (n=3), Notch1 (n=1) y TP53 (n=1). Una muestra no tenía mutación conocida. Cuatro muestras fueron analizadas por duplicado para valorar el grado de reproducibilidad.

RESULTADOS:

El análisis mediante NGS identificó en las muestras de AML entre 1 y 4 mutaciones por caso, y se confirmaron el 100% de las mutaciones descritas por Sanger. Además, en 4 de los casos con mutaciones conocidas y en los 6 casos sin mutación detectada por Sanger se identificaron mutaciones en genes no estudiados previamente. Las muestras analizadas con el panel de tumores sólidos presentaron en-

tre 1 y 6 mutaciones, y todas las mutaciones conocidas fueron identificadas. Además, en 6 de las 9 muestras con mutación conocida se describieron mutaciones en genes adicionales. En las cuatro replicas analizadas se identificaron las mismas mutaciones.

CONCLUSIONES:

La secuenciación de paneles de genes mediante la tecnología AmpliSeq y el secuenciador PGM ha mostrado ser una aproximación tecnológica robusta, con una reproducibilidad y sensibilidad óptima para ser utilizada en la rutina clínica.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 127

EL ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN PROTEICA ES RELEVANTE EN EL ANÁLISIS DE LA PATOGENICIDAD DE LAS VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO EN MSH2

Autor/a/s: Anna Fernández, Maribel González-Acosta, Matilde Navarro, Joan Brunet, Silvia Iglesias, Àngela Velasco, Ares Solanes, Conxi Lázaro, Gabriel Capellà, Marta Pineda.

Centro de trabajo: Programa de Cáncer Hereditario, Institut Català d'Oncologia

Localidad: L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: afobles@iconcologia.net

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El síndrome de Lynch (SL) es el síndrome de predisposición hereditaria a cáncer colorectal más frecuente, y está causado por mutaciones germinales en genes reparadores de desapareamientos (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2). Los tumores de estos pacientes se caracterizan por presentar inestabilidad de microsatélites y pérdida de expresión de proteínas reparadoras.

En una proporción importante de pacientes con sospecha de SL (15-30%) el estudio genético de genes reparadores identifica cambios en el DNA que son considerados variantes de significado desconocido (VSD), de las cuales se desconoce su significado biológico.

En una serie de 61 pacientes con tumores con pérdida de expresión de MSH2/MSH6 el estudio mutacional del gen MSH2 identificó 32 mutaciones patogénicas y 8 VSDs. En la evaluación de la patogenicidad de estas VSDs el estudio de splicing del RNA detectó transcritos aberrantes en 5 de estas variantes. Las 3 variantes restantes (c.518T>G -identificada en 2 familias-, c.989T>C y c.2069A>G) no mostraron defecto a nivel de RNA, por lo que requerían la realización de estudios a nivel de proteína.

OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo fue evaluar la patogenicidad de las VSDs c.518T>G, c.989T>C y c.2069A>G del gen MSH2 mediante análisis de expresión proteica.

MÉTODOS:

Las tres variantes a analizar y los controles c.482T>A, c.518T>C y c.815C>T se introdujeron en el plásmido MSH2-pN1 mediante mutagénesis dirigida. Las variantes se transfectaron en células LoVo (deficientes en MSH2) en combinación con MSH6-pN1 mediante Lipofectamine Plus y GFP. Después de 48 horas se determinó el porcentaje de transfección mediante citometría de flujo y se realizó la extracción de proteínas totales. Se analizó la expresión de MSH2 y MSH6 (proteína con la que MSH2 forma un dímero) mediante electroforesis y western blot. Se realizaron 2 transfecciones independientes para cada variante y al menos 2 western blot para cada transfección.

RESULTADOS:

En los diferentes experimentos se obtuvieron porcentajes de transfección homogéneos cercanos al 15%. En el análisis de expresión proteica, las variantes c.482T>A y c.518T>C mostraron un defecto en la expresión de MSH2 y MSH6, mientras que c.815C>T no mostró diferencias de expresión con la proteína salvaje, tal como se había descrito previamente. Asimismo, las variantes c.518T>G (p.Leu-173Arg), c.989T>C (p.Leu330Pro) y c.2069A>G (p.Gln690Arg) presentaron expresión significativamente disminuida de las proteínas MSH2 y MSH6. En dos familias portadoras de las variantes c.518T>G y c.989T>C se realizaron estudios predictivos en otros individuos afectos, confirmando su cosegregación con la enfermedad.

CONCLUSIONES:

Las VSDs c.518T>G, c.989T>C y c.2069A>G del gen MSH2 presentan expresión disminuida de MSH2 y MSH6 en células transfectadas. Este resultado sugiere la patogenicidad de estas variantes, de acuerdo con los datos de cosegregación. Se complementarán estos datos con el análisis de actividad reparadora de estas variantes, con el objetivo de determinar el impacto de la expresión disminuida en su función.

La reclasificación de VSDs a mutaciones patogénicas permitirá mejorar el diagnóstico molecular de estos pacientes y en consecuencia facilitar el consejo genético a las familias portadoras.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 132

EL ESTUDIO DEL MRNA ES ÚTIL PARA LA CLASIFICACIÓN FUNCIONAL DE LAS VARIANTES DE SIGNIFICADO DESCONOCIDO DEL GEN MSH2

Autor/a/s: Carolina Gómez, Anna Fernández, Matilde Navarro, Joan Brunet, Silvia Iglesias, Àngela Velasco, Ares Solanes, Gabriel Capellà, Conxi Lázaro, Marta Pineda

Centro de trabajo: Programa de Cáncer Hereditario, Institut Català d'Oncologia

Localidad: L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: cgomez@iconcologia.net

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El síndrome de Lynch (SL) es el síndrome de predisposición hereditaria a cáncer colorectal más frecuente, y está causado por mutaciones germinales en genes reparadores de desapareamientos (MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2). En una proporción importante de pacientes con sospecha de síndrome de Lynch (15-30%) el estudio genético de genes reparadores identifica cambios en el DNA que son considerados variantes de significado desconocido (VSD), de las cuales se desconoce su significado biológico. En una serie de 61 pacientes con tumores con pérdida de expresión de MSH2/MSH6 el estudio mutacional del gen MSH2 identificó 32 mutaciones patogénicas y 8 VSDs (c.211G>C, c.518T>C, c.989T>C, c.1276G>A, c.2069A>G, delección del exón 8, duplicación del exón 11 y duplicación de los exones 11-16).

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio fue determinar la patogenicidad de VSDs en MSH2 identificadas en nuestra serie mediante análisis del mecanismo de splicing y expresión del mRNA.

MÉTODOS:

ESTUDIO DEL SPLICING DEL RNA

Se aislaron linfocitos de sangre periférica mediante linfoprep con FICOLL-Paque. Los linfocitos fueron cultivados en medio RPMI 1640 suplementado con fitohemaglutinina y suero bovino fetal durante 3-5 días. El cultivo se dividió en dos partes. Una de ellas se incubó 6 horas con puomicina para evitar el NMD (Nonsense Mediated Decay), mecanismo que asegura la degradación de transcritos del mRNA que podrían dar lugar a proteínas truncadas. El RNA total fue extraído mediante Trizol. Para la síntesis de cDNA se utilizó SuperScript II Reverse Transcriptasa. La posterior amplificación de la zona de interés en MSH2 (que contiene la variante) se realizó usando cebadores específicos. Los fragmentos amplificados fueron secuenciados utilizando BigDye mediante electroforesis en un secuenciador ABI3130xl. Para la interpretación de los resultados, éstos se compararon con los obtenidos en linfocitos de 3 individuos control.

ESTUDIOS DE EXPRESIÓN ALÉLICA

Después de la amplificación de la región de interés (que contiene la variante) en cDNA y DNA genómico, se determinó la expresión relativa de la variante en cDNA respecto a DNA genómico mediante extensión de un único nucleótido en la posición de la variante utilizando el kit SNaPshot. Consideramos que un alelo es inestable si la proporción es <0.5.

RESULTADOS:

Tres variantes (c.211G>C, la delección del exón 8 y la duplicación del exón 11) generaban transcritos que daban lugar a proteínas truncadas. La variante c.1276G>A daba lugar a un transcrito aberrante que provocaba la delección en pauta de un dominio proteico altamente conservado. Estas 4 variantes fueron clasificadas como patogénicas, es decir, responsables de síndrome de Lynch. En tres de las cuatro familias las variantes se pudieron analizar en otros individuos afectos y se confirmó la cosegregación de éstas con la enfermedad.

Asimismo, la duplicación de los exones 11 al 16 provocaba en el mRNA la duplicación de los mismos más allá del codón stop. La expresión alélica técnicamente no pudo ser evaluada. Estos resultados no permiten actualmente su clasificación. Las tres variantes restantes (c.518T>G, c.989T>C y c.2069A>G) no mostraron transcritos aberrantes ni expresión alélica alterada, requiriendo continuar el estudio de éstas a nivel de proteína.

CONCLUSIONES:

Los estudios de splicing del mRNA en pacientes portadores de VSDs en MSH2 ha permitido clasificar como mutaciones patogénicas el 50% de las variantes analizadas. Este hecho confirma la elevada prevalencia de este tipo alteraciones y la importancia de incluir los estudios a nivel de RNA en la rutina diagnóstica.

La clasificación de una variante como mutación patogénica permite mejorar el diagnóstico molecular y el consejo genético de las familias portadoras.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 156

IDENTIFICACIÓN DE FORMAS DE "SPLICING" DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON MODULADORES DEL "SPLICEOSOMA" MEDIANTE PCR Y SECUENCIACIÓN

Autor/a/s: Roldán Moreno, Jocabed; Xargay-Torrent Silvia, Monica Lopez-Guerra; Colomer, Dolors.

Centro de trabajo: Centre Esther Koplowitz, Institut d'Investigacions

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La mayoría de genes son transcritos como pre-mRNAs que contienen intrones (secuencias no codificantes) y exones (secuencias codificantes). Los intrones son eliminados por el complejo llamado spliceosoma durante el proceso de splicing, un proceso crucial para la regulación de la expresión génica que se ve alterado en las células tumorales. En este contexto, se ha visto que varios compuestos naturales y fármacos tienen actividad antitumoral ya que modulan la actividad del spliceosoma produciendo formas de splicing variantes de determinados genes.

OBJETIVOS:

En el presente trabajo pretendimos identificar, mediante secuenciación, las diferentes formas de splicing de genes de interés (RELA e IBTK) inducidas por el tratamiento con moduladores del spliceosoma en células tumorales, demostrando así su efecto.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Las células primarias de leucemia linfática crónica (LLC) se trataron con el modulador de spliceosoma (sudemicina) durante 6 horas. El RNA se extrajo mediante TRIzol (Life Technologies) de acuerdo con las indicaciones del fabricante y su concentración se determinó en un Nanodrop (Thermo Scientific). El RNA se trató con DNasa (Ambion) para eliminar los restos de DNA contaminante y posteriormente se retrotranscribieron 0,5-1 μ g de RNA a cDNA utilizando la transcriptasa reversa M-MLV (Life Technologies). La PCR de splicing se llevó a cabo con oligonucleótidos específicos para determinados exones de los genes RELA e IBTK dependiendo de la región a analizar. Se utilizaron los siguientes pares de oligonucleótidos unidos a una cola de M13 en 5' : 5' -GATGAGATCTTCTACTGTGTGACAAG-3' y 5' -GGGAA-GGCACAGCAATGC-3' correspondientes a los exones 7 y 10 del gen RELA, 5' -TGTGGATCTCAGAACTATCATGGAA-3' y 5' -GCCTGAAGTAT-GGCTAGTAACAGACTT-3' correspondientes a los exones 24 y 26 del gen IBTK. Las condiciones de PCR touchdown fueron: 95°C durante 10 minutos, 10 ciclos de 95°C durante 30 segundos, 65°C (decreciendo 1°C cada ciclo) durante 30 segundos y 72°C durante 1 minuto, 25 ciclos de 95°C durante 30 segundos, 55°C durante 30 segundos y 72°C durante 1 minuto, y finalmente 72°C durante 7 minutos. Los productos resultantes de la PCR fueron visualizados en un QIAxcel capillary electrophoresis device (QIAGEN) y separados en un gel de 2% agarosa MetaPhor (Lonza). Las bandas de los productos candidatos fueron cortadas, purificadas y eluidas en 15 μ l de tampón mediante el kit NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel). La PCR de secuenciación con la metodología Sanger se llevó a cabo con los oligonucleótidos universales M13 5' -TGTAACGACGGCCAGT-3' y 5' -CAGGAAACAGCTATGACC-3' y el BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los productos de secuenciación se precipitaron y analizaron en un aparato de electroforesis capilar que permitió obtener la secuencia.

RESULTADOS:

El modulador de spliceosoma (sudemicina) producía formas de splicing alternativas de RELA e IBTK en las células tumorales de LLC. En el caso de RELA, la secuenciación demostró una pérdida del exón 8 y parcial del 7, regiones importantes para la actividad de la proteína. En IBTK se observó una pérdida del exón 25 implicado también en su función.

CONCLUSIONES:

Estos resultados demostraron que la secuenciación al utilizar oligonucleótidos con una cola de M13 es de gran utilidad para el análisis de estas formas de splicing, ya que permite unificar el proceso de secuenciación de los productos utilizando un único par de oligonucleótidos M13 y unas mismas condiciones de PCR.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 158

DESCRIPCIÓN Y APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE CITOGENÉTICA CONVENCIONAL EN MUESTRAS DE TUMORES RENALES

Autor/a/s: Carme Melero, Marta Salido, María Rodríguez-Rivera, Anna Puiggros, Sergi Serrano, Blanca Espinet

Centro de trabajo: Laboratori de Citogenètica Molecular. Servei de Patologia. Hospital del Mar.

Localidad: Barcelona

Dirección del primer firmante:

Correo electrónico del primer firmante: melerovilella2@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El cultivo in vitro de muestras de tumores renales en fresco y su procesamiento posterior para la obtención de metafases es un método que permite el estudio del cariotipo de las células tumorales. Los resultados obtenidos contribuyen al diagnóstico y pronóstico del paciente, aportando información específica de las alteraciones cromosómicas. Asimismo, la manipulación de la muestra en fresco permite la obtención de material para la extracción de ADN, utilizado para estudios moleculares posteriores, como los arrays de hibridación genómica comparada (HGC).

OBJETIVO:

Describir la técnica utilizada para el cultivo de muestras biológicas en fresco de tumores renales en el Laboratorio de Citogenética Molecular del Hospital del Mar en Barcelona. Evaluar la rendibilidad de la técnica de citogenética convencional de los tumores renales.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recogieron 160 muestras de tumores renales entre enero de 2008 y febrero de 2015. En todos los casos, el patólogo responsable solicitó el cultivo de citogenética convencional de las muestras en fresco. En aquellos casos con suficiente tejido, una parte se destinó a la extracción de ADN.

Mediante un proceso de disgregación mecánica y enzimática (colagenasa Tipo IV), se obtuvo una suspensión celular que se transfirió a un frasco de cultivo estéril con medio suplementado (DMEM+Glutamina+Penicilina/Streptomycin). Periódicamente, se valoró la evolución del cultivo en un microscopio de contraste de fases, controlando el crecimiento celular y realizando el mantenimiento del mismo mediante el cambio de medio de cultivo correspondiente. Se procedió a la extracción en el momento de máximo crecimiento y división celular (80% de confluencia), siendo la mediana de tiempo de cultivo de 2 semanas. En primer lugar se añadió una solución antimitótica (Colcemid) que detiene la división celular en la fase de metafase. Seguidamente, se realizó un choque de solución hipotónica para romper la membrana celular. A continuación se fijó la muestra con una solución de ácido acético/metanol (60%), eliminando también los restos de citoplasma. Finalmente, se realizaron las extensiones del material

fijado en portaobjetos de cristal. Una vez secadas y teñidas con colorante de Wright (para obtener un patrón de bandas G), se valoraron las extensiones en un microscopio óptico.

RESULTADOS:

-La técnica de citogenética nos permitió obtener suspensiones de células fijadas de 80/160 (50%) muestras, material que podremos almacenar a -80°C para posteriores estudios con técnicas de FISH. En 80 casos no se pudo realizar el análisis del cariotipo por no crecimiento del cultivo (71,3%), por muestra contaminada (15%) por material insuficiente (12,5%), y por muestra no apta (1,2%).

-De los 80 casos con material fijado, se obtuvo resultado de cariotipo en 42/80 (52,5%): 33 presentaron un cariotipo alterado y 9 un cariotipo normal. De los 33 casos, 17 eran carcinomas papilares, 12 eran carcinomas renales de célula clara (CRCC), 1 carcinoma cromóforo, 1 oncocitoma y 1 carcinoma renal urotelial y 1 carcinoma mucinoso.

CONCLUSIONES:

-Se obtuvo un bajo rendimiento de la técnica de citogenética convencional en tumores renales (50%). La elevada necrosis que presentan los tumores renales, la contaminación bacteriana debido a la manipulación del tumor y la viabilidad celular de la muestra recibida imposibilita en la mitad de los casos el estudio del cariotipo.

-En los casos en los que se obtuvo resultado del cariotipo, éste fue de utilidad en el diagnóstico ya que se detectaron las alteraciones cromosómicas típicas de cada subtipo histológico.

-El material obtenido del cultivo de tumores sólidos (material fijado y ADN) es de utilidad para realizar posteriores estudios moleculares.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 166

EVALUACIÓN DE LA IMPLANTACIÓN DE LA PCR PARA LA DETECCIÓN DE GENES PRODUCTORES DE TOXINAS EN EL ALGORITMO DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Autor/a/s: Luceño Castilla Yolanda, Guerrero Hormiga Vanessa, Pérez Martínez Montserrat, Nadal Méndez Beatriz, Parejo Vico Susana.

Centro de trabajo: Laboratori Clínic ICS Camps de Tarragona-Terres de l'Ebre

Localidad: Tarragona

Dirección del primer firmante:

Correo electrónico del primer firmante: yolanda.yolyluca@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La infección por *Clostridium Difficile* (ICD) es la causa principal de diarrea nosocomial en países desarrollados y una de las más frecuentes de origen comunitario. El enorme impacto tanto sanitario como económico que genera ha dado lugar a un creciente interés por esta infección.

En los últimos años, más del 90% de los laboratorios utilizaban como único método diagnóstico la detección de las toxinas A y B mediante enzimoinmunoensayo (EIA). Estas técnicas presentan una elevada especificidad (95%) pero una escasa sensibilidad (40-60%), lo que ha dado lugar al desarrollo de algoritmos diagnósticos basados en cribado mediante EIA para la detección de glutamato-deshidrogenasa (GDH) y toxinas A/B, debiéndose comprobar los resultados discordantes mediante PCR y así evitar falsos negativos.

OBJETIVO:

Evaluación de la eficacia diagnóstica de la ICD a raíz de la implantación de la PCR en el algoritmo diagnóstico.

Material y métodos:

Análisis retrospectivo de los resultados de las muestras de heces a las que se solicitaba la determinación de Toxina de *Clostridium Difficile*, desde la implantación del algoritmo diagnóstico, entre Mayo de 2013 y febrero de 2014. La determinación de la GDH y toxinas A/B se realizó mediante EIA, RIDA® QUICK C. *difficile* GDH y RIDA® QUICK C. *difficile* Toxin A/B de Biopharm respectivamente. Para la PCR se utilizó Xpert®C. *Cepheid*, la cual también detecta cepas hipervirulentas resistentes a las fluoroquinolonas (O27/NAP1/B1).

Previamente se confirmó la validez de la PCR mediante el estudio de las cepas GDH + y toxinas A/B +.

RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se solicitó la determinación de Toxina de *Clostridium Difficile* a 502 muestras, siendo 57 (11,40%) positivas en el cribado de GDH. En 35 de los 57 (61,4%) casos GDH positivos se obtuvo resultado discordante con la determinación de las toxinas A/B (GDH + / Toxina A/B -), siendo necesaria la comprobación mediante PCR. Finalmente, 20 de los 35 (57,1%) casos discordantes resultaron ser cepas toxigénicas. Ninguna de ellas fue cepa hipervirulenta O27/NAP1/B1.

CONCLUSIONES:

Un 57,1% de los casos con toxina A/B por EIA resultaron ser falsos negativos al comprobarse por PCR. La escasa sensibilidad de este método hace necesaria la inclusión de la PCR en los casos discordantes. No obstante, la importancia de la detección de la toxina A/B en el algoritmo diagnóstico de ICD radica en su alto valor predictivo positivo que permite disminuir el número de determinaciones a comprobar mediante PCR (GDH + /Toxina A/B +) y as

HEMATOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 010

TRANSFUSIONES DE COMPONENTES SANGUÍNEOS

Autor/a/s: Miñambres Prieto Maria Jose, Gutiérrez Toledo Aurora, Campos Morales Estefanía y Dra. Zato Hernández Esther

Centro de trabajo: Hospital Clínico Universitario de Valladolid

Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: javierburgos61@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La terapia transfusional tiene tres objetivos principales:

- Mantener y restaurar un volumen adecuado de sangre con el fin de prevenir o combatir el choque hipovolémico.
- Mantener la capacidad de aporte de oxígeno en sangre.
- Reponer componentes específicos como proteínas, glóbulos rojos y leucocitos.

OBJETIVOS:

Evaluar y analizar resultados analíticos de pacientes transfundidos que cumplen o no con las recomendaciones en terapia transfusional de la Sociedad Española de Transfusiones Sanguíneas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se establecen unas recomendaciones de transfusiones de concentrado de hematíes con valores orientativos de hemoglobina. Su objetivo es alcanzar un aumento de transporte de oxígeno en sangre y como consecuencia, un aumento de aporte de oxígeno en tejidos.

Por cada concentrado de hematíes (285ml de volumen) aumenta 1gr/dl la hemoglobina y un 3% - 4% el hematocrito en adultos. En pacientes pediátricos por cada 8ml/Kg aumenta 1gr/dl la hemoglobina.

En cuanto a la transfusión de plaquetas (390ml) su objetivo es la prevención de hemorragias en pacientes con defectos cualitativos/cuantitativos de las mismas. Estas pueden usarse de forma profiláctica y terapéutica (valores con <50.000 plaquetas para procesos invasivos, <100.000 en cirugía del sistema nervioso central).

Cuando nos referimos a la transfusión de plasma (249ml) su uso no debe basarse solamente en datos analíticos, sino en el riesgo y consecuencias de sangrado de cada paciente.

Una hemostasia satisfactoria puede alcanzarse: 20-30% del valor normal de los factores de coagulación y >100mg/dl de fibrinógeno.

Evaluar respuesta clínica y test de coagulación.

RESULTADOS:

Durante del año 2014 se ha solicitado concentrados de hematíes para 3.808 pacientes; transfundiéndolos 11.940 unidades de ellos.

En cuanto a plasma han sido solicitados para 252 pacientes enviando en total 775 unidades.

La cifra de pacientes para los que se han solicitado plaquetas ha sido 379 enviándose 1.125 pools.

CONCLUSIÓN:

Analizando mes a mes la práctica transfusional de diferentes componentes (concentrados de hematíes, plasma y plaquetas) en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid. En cuanto a los concentrados de

hematíes y las plaquetas hemos concluido que en un 93,33% de los casos la administración del componente sanguíneo se ajusta a las recomendaciones mencionadas anteriormente.

Al no tener acceso a las historias clínicas, desconocemos la urgencia en algunos casos que a priori no se ajustan a los criterios de transfusión (sangrado agudo, intervenciones urgentes&)

Por el mismo motivo y debido a la terapia con plasma no se basa tanto en cifras como riesgo de sangrado, resulta complicado utilizar solo el análisis de las analíticas para poder llegar a alguna conclusión.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 016

EL PAPEL DE UN ADECUADO DESPISTAJE DE ANTÍGENOS LINFOCITARIOS EN LA SECCIÓN DE CITOMETRÍA DE FLUJO HEMATOLÓGICA DEL HOSPITAL TERESA HERRERA EN 2014

Autor/a/s: Barreiro Castro Belén, Rodil Ferreiro Rebecca, Couselo Noya María Jesús, Rodríguez Barcia José, Ogea González María Teresa.

Centro de trabajo: HOSPITAL TERESA HERRERA

Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: belserena@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La citometría de flujo es un método rápido, objetivo y cuantitativo que actualmente se emplea en los laboratorios clínicos para diagnóstico inmunofenotípico de leucemias y linfomas, entre otras cosas. Sin embargo, es crucial disponer de un despistaje adecuado que nos encamine hacia un posterior estudio más específico para ese caso o nos descarte ya, con un solo tubo, la necesidad de una ampliación.

OBJETIVO:

Analizar y comunicar el papel de un correcto despistaje en el estudio de linfocitosis para poder seleccionar aquellos subsidiarios de ampliación del estudio y determinar con gran rapidez la línea de estudio adecuada en el hospital Teresa Herrera durante 2014.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han incluido las 375 muestras con linfocitosis o sospecha de linfoma no Hodgkin a las que a lo largo del año 2014 se les ha realizado nuestro screening adaptado del propuesto por Euroflow.

El método utilizado ha sido el marcaje de la muestra, sangre periférica o aspirado de médula ósea, recibida en tubo de EDTA, con los siguientes anticuerpos monoclonales: Lambda y CD8 en FITC, Kappa y CD56 en PE, CD3 en Percp-Cy5.5,

CD19 en PE-Cy7, CD5 en APC, CD58 en APC-H7, CD4 y CD20 en Pacific Blue y CD45 en V500.

El estudio se ha realizado de forma semiautomatizada con el citómetro para ocho colores Becton Dickinson FASCCanto II.

Los resultados son transmitidos al programa de análisis Infinicy®.

RESULTADOS:

Del total de los 375 pacientes a los que se les ha procesado ese tubo como screening, 154 (41%) no han necesitado ampliación, siendo en

52 casos muestras de sangre periférica y en 102 casos muestras de aspirado de médula ósea.

Los otros 221 (58.9%) pacientes han mostrado una alteración en cantidad o expresión antigénica que han derivado en ampliación .

Así, 132 pacientes (59.7%) han requerido un estudio posterior relacionado con la línea B debido a la positividad de los marcadores CD19 y CD20, monoclonalidad Kappa o Lambda o expresión de CD5.

Otros 42 pacientes (19%) han sido dirigidos hacia la línea T con positividad de los marcadores CD3,CD4,CD8,CD5.

Y 5 pacientes (2.2%) con la de NK con la positividad de CD56 Y CD38.

Los 42 (19%) casos restantes se han resuelto con otras vías de ampliación diseñadas con los hallazgos citométricos y analíticos.

CONCLUSIONES:

La realización de nuestro screening nos ha evitado en un porcentaje muy elevado de casos una ampliación del estudio, e incluso en un número relevante de ellos ha sido suficiente con una muestra de sangre periférica.

La mayoría de las muestras con estudio posterior al screening han ido enfocadas hacia la línea B, hay también una cantidad importante que se dirige hacia la línea T y los casos que derivan en estudio de las NK son mucho menos comunes.

El ahorro en procesamiento con respecto al tiempo empleado por el técnico repercute también en una carga mental de trabajo mucho más saludable y con respecto al ahorro de material es obvio que con nuestro despistaje hay un correcto uso de los recursos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 045

INFLUENCIA DE HEMOLISIS EN ESTUDIO BASICO DE COAGULACION

Autor/a/s: M^a Begoña Calderón del Pino, Aurora Fidalgo Garcia.

Centro de trabajo: Hospital San Agustín

Localidad: Avilés

Correo electrónico del primer firmante: begocalpin@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En la práctica diaria del laboratorio de Hematológica de urgencias, se plantean dudas sobre la idoneidad de las muestras recibidas para su análisis. Se reciben muestras hemolizadas, planteándonos la duda de si estos resultados serán fiables o por el contrario existen diferencias significativas con respecto a muestras no hemolizadas.

OBJETIVOS:

Determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en la determinación de un estudio básico coagulación si las muestras presentan hemólisis. De existir diferencias, poder determinar a partir de que niveles de hemólisis dejan de ser fiables los resultados.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se procesan 66 muestras de pacientes elegidos de modo aleatorio (sin hemólisis) provenientes del servicio de urgencias. Recogidas en tubos vacuette® 4 ml. Con citrato sódico 3.2%, centrifugadas a 3.500 rpm 10 min. y posteriormente se realiza perfil básico de coagulación: TP (tiempo de protrombina). Tasa de la TP. INR (Internacional Normalized Ratio). TTPA (tiempo de tromboplastina parcial activado). Ratio de TTPA. Fibrinógeno derivado. Fibrinógeno claus. A continuación se someten estas muestras a una hemólisis controlada in Vitro mediante

ultrasonidos, medimos los índices de hemólisis y repetimos el mismo perfil básico en muestras homolizadas. Para este proceso se utiliza el analizador CS-2100i de Sysmex Corporation con los reactivos Dade®Innovin® para determinación del TP. Dade®Actin®FS y CaCl₂ para el TTPA. Dade®Thrombin Reagent para el fibrinógeno claus. Las muestras se someten a hemólisis con un aparato de ultrasonidos Trasonico 310-ELMA, se analiza el nivel de hemólisis en analizador Roche/Hitachi Cobas c501.

RESULTADOS:

Se realiza un análisis estadístico con los resultados obtenidos de las muestras sin y con hemólisis con el programa SSPS. Para hallar, si existe, significación estadística. Los resultados se expresan en la siguiente tabla, presentando significación estadística para valores <0.05 para un CI 95%.

	N	Media sin hemólisis	Media con hemólisis	T de student	significación
TP(seg.)	66	14,764	14,161	2,481	0,016
Tasa TP(%)	66	85,803	87,806	-3,922	0,000
INR	66	1,3421	1,2961	2,194	0,032
APTT(seg.)	66	27,814	27,555	0,639	0,525
Ratio APTT	66	1,1297	1,1029	1,208	0,231
FIB D(mg/dl)	66	499,512	478,597	5,843	0,000
FIB K(mg/dl)	66	393,920	383,245	1,932	0,060

Podemos ver que en el caso tanto del TP, Tasa del TP e INR los tiempos se acortan de manera significativa, al igual que el fibrinógeno derivado. Al analizar por grupos, según el nivel de hemólisis, identificamos que los tiempos comienzan a acortarse a partir de un nivel de hemólisis de 200 mg/dl Hb, existiendo diferencias significativas, en primer lugar, la tasa del TP y el Fib D. Por encima de una hemólisis de 400 mg/dl de Hb, se ven además diferencias significativas en el TP y el INR. También observamos que con hemólisis superior a 600 mg/dl Hb, el Fib K no se detecta cóagulo.

CONCLUSIONES:

La hemólisis interfiere en el estudio básico de la coagulación, alterándose de manera significativa el TP y el INR con hemólisis superiores a 400 mg/dl Hb, con lo que no debemos considerar estos resultados fiables. El Fib D y la tasa del TP ya dejan de ser fiables con hemólisis superiores a 200 mg/dl Hb. En muestras con hemólisis superiores a 200 mg/dl de Hb sería conveniente solicitar nueva muestra o advertir de que estos resultados pueden estar alterados por la hemólisis

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 050

EXTRACCIÓN DEL ADN FETAL CIRCULANTE EN PLASMA MATERNO. UTILIDAD EN EL DIAGNOSTICO PRENATAL NO INVASIVO DE LA ANEMIA Y TROMBOPENIA NEONATAL POR INMUNIZACIÓN MATERNA

Autor/a/s: Pilar Jimenez Arriscado, Ana Rosa Guerrero Cervera, Yolanda Galan Arribas, Dr Pilar Noguero Novella.

Centro de trabajo: Hospitales Universitarios Vigen Rocio

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: telpili@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El ADN del feto se encuentra circulando libre de células en sangre de la gestante, en pequeñísimas cantidades ya desde las primeras

semanas hasta unos minutos después del parto. Su extracción, purificación y amplificación por PCR ha hecho posible, en los últimos años, el estudio de patologías prenatales de forma no invasiva a través de muestras de sangre de la madre. Pero para evitar la degradación del ADN la recogida y procesamiento de muestras tiene unos tiempos muy ajustados desde la venopunción. Se expone a continuación un protocolo de actuación multidisciplinar que ha permitido utilizar esta técnica en el diagnóstico de dos enfermedades muy graves: la enfermedad hemolítica perinatal y la Trombopenia por inmunización materna.

OBJETIVO:

Ajustar los protocolos de recogida y procesamiento de muestras hasta la correcta obtención del ADN fetal circulante para:

1. Utilizarlo en el diagnóstico no invasivo del genotipo D (RHD), en gestantes Rh D negativas en la semana 28, para optimizar la profilaxis preparto con Gammaglobulina anti D.
2. Igualmente en las inmunizadas por anti D para valorar tempranamente el RHD del feto a partir de la semana 10, evitando pruebas si el niño resulta compatible.
3. Poner a punto del estudio del genotipo plaquetario fetal HPA1-a y 1-b en gestantes en la semana 28 para su aplicación en la prevención y tratamiento de la Trombopenia neonatal Alóimmune.

MATERIAL Y METODOLOGÍA:

Según nuestro protocolo se obtiene una muestra de sangre en EDTA de todas las gestantes del Área Hospitalaria en el primer trimestre para estudio de Grupo ABO, Rh y Anticuerpos irregulares. Las Rh D negativas son citadas en el Hospital en la semana 28 obteniéndose por venopunción dos muestras de sangre en EDTA, una para comprobación de ausencia de anticuerpos y otra para estudio del RHD fetal. Según el resultado se administra profilaxis con Gammaglobulina anti D sólo a las portadoras de fetos D positivos.

A las inmunizadas por anti D la extracción y estudio se efectúa a partir de la semana 10.

De igual forma, se utiliza el ADN obtenido de las gestantes en la semana 28 para puesta a punto del genotipado de los antígenos HPA 1a y HPA 1b fetales.

En todos los casos se realiza comprobación postparto de los antígenos estudiados en muestras de sangre de cordón.

Las muestras destinadas a la obtención del ADN no se abren hasta su centrifugación a 3000r.p.m. durante 5 minutos antes de las 6 horas de la venopunción. El plasma resultante se congela antes de 24 horas a -80 grados hasta su procesamiento.

La extracción y purificación de ADN fetal se realiza automáticamente en 30 minutos con el Magna Pure Compact, mediante esferas con núcleo paramagnético y cubierta de material aislante, obteniéndose 50 µL de ácidos nucleicos muy purificados. Una vez extraído el ADN se congela para su posterior amplificación por PCR y estudio de los antígenos correspondientes.

RESULTADOS:

De 5670 muestras de plasma estudiadas, en el 1,2% no se consiguió suficiente ADN en el primer procesamiento. Tras la comprobación de ausencia o disminución de Betaglobina por PCR se procedió a una segunda extracción con buenos resultados.

Solo en casos aislados no se ha encontrado en los tubos finales la cantidad deseada de 50 µL.

La purificación de este ADN ha permitido el estudio de 5670 gestantes Rh D negativas. El 38% de ellas al ser portadoras de fetos RHD negativos no han requerido profilaxis preparto. Se ha comprobado la fiabilidad de resultados postparto en 4000 muestras de sangre de cordón, sin ningún falso negativo.

CONCLUSIONES:

Para obtener resultados fiables es imprescindible una asepsia en muestra y manipulación para evitar contaminación del ADN del medio. Es muy importante la separación de plasma por centrifugación antes de las 6 horas tras la venopunción y su congelación antes de las 24 horas.

Para comprobar la existencia de ADN en el producto final hay que valorar la existencia de Betaglobina mediante PCR cualitativa en los casos que no amplifique el gen objeto de estudio.

El seguimiento de un protocolo estricto en la gestante desde la atención primaria hasta el parto permite la extracción de ADN y el estudio de todas las gestantes Rh D negativas del Área Hospitalaria, y de las inmunizadas por anticuerpos anti D y ó plaquetarios.

Además posibilita la comprobación de resultados en muestras de cordón de sus recién nacidos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 055

ESTUDIO DE ANEMIA HEMOLITICA AUTOINMUNE (AHAI) A PROPOSITO DE UN CASO

Autor/a/s: URBON LOPEZ CRISTINA, BERGAZ LOPEZ MARIA TERESA*, CABEZAS MARCOS SOFIA EVANGELINA*, FUENTE SALAMON JENNIFER DE LA**, Dra. ZATO HERNANDEZ ESTHER***, Dr. PADRON RIVAS VICTOR FRANCISCO***. (*TEL SºHEMATOLOGIA, **DUE SºHEMATOLOGIA, ***FEA HEMATOLOGIA).*

Centro de trabajo: HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID

Localidad: VALLADOLID

Correo electrónico del primer firmante: CRISTINAUL78@HOTMAIL.COM

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La AHAI está producida por autoanticuerpos que se desarrollan por el sistema inmunológico. Las AHAI se pueden clasificar atendiendo a la temperatura óptima de reacción de los autoanticuerpos en: calientes (IgG que actúan a 37°C), fríos (IgM o crioglobulinas que actúan entre 0°-20°C) y bifásicos (que se fijan a la membrana eritrocitaria a baja temperatura y hemolizan a 37°C). El estudio de las mismas a nivel de laboratorio conlleva cierta complejidad teniendo que recurrir a técnicas poco habituales.

OBJETIVOS:

Realizar el estudio de anemia hemolítica en el laboratorio de inmunohematología para facilitar el diagnóstico de AHAI a propósito de una paciente (asintomática con analítica rutinaria: Hb 6 gr/dl, bilirrubina y LDH elevados, Test Coombs Directo pos 4+); y sin antecedentes transfusionales.

MATERIAL Y MÉTODOS:

MATERIAL: 5-6 tubos edta, 3 tubos suero. Extracción y mantenimiento de las muestras a 37°C.

MÉTODOS: Se realizó el estudio, conforme al protocolo existente en nuestro servicio.

Con hemáties: determinación grupo ABO y Rh (prueba hemática y sérica), determinación fenotipo Rh y otros fenotipos, TCD poli y monovalentes, subtipos de IgG, titulación y eluido con hemáties.

Con suero: grupo ABO, escrutinio Ac irregulares, paneles de identificación de Ac eritrocitarios (suero y eluido), absorción diferencial de suero y eluido.

RESULTADOS:

Determinación grupo ABO y Rh: prueba hemática anti-A, anti-B, y anti-AB negativos; prueba sérica hematíes A1 y B positivos. Rh positivo. Control Rh negativo.

Determinación fenotipo Rh: Anti-C, Anti-c y Anti-e positivos. Genotipo Rh más probable DCE/dce (R1r). Así mismo se hizo fenotipo extendido (Kell, Duffy, Kidd, MNS).

Determinación TCD polivalente: positivo 4+. Determinación TCD monovalentes: IgG pos 3+, IgA neg, IgM neg, complemento neg. Subtipos IgG: IgG1 pos 2-3+; IgG2, IgG3, e IgG4 negativos. Determinación TCI: positivo.

Identificación anticuerpos en suero: panel liss-coombs compatible con especificidad Anti-e; en panel enzimático se observa panaglutinina (2-3+). Se descartó la presencia de aloanticuerpos.

Eluido y paneles de identificación (técnica Diacidel): muestra panaglutinina con patrón de reactividad homogénea.

Absorciones diferenciales frente a hematíes: R1R1 neg, R2R2 sugestivo de Anti-e, rr sugestivo de Anti-C.

CONCLUSIÓN:

No se realizó detección de anticuerpos fríos, ni de crioglobulinas, a la vista de los resultados anteriores.

Se trata de una paciente grupo O, Rh pos, que tras el estudio podemos concluir que presenta una AHAI por autoanticuerpos de tipo IgG con activación de IgG1 y con especificidad Anti-C y Anti-e.

Este hallazgo permitirá, en caso de que fuera necesario seleccionar las unidades de hematíes más idóneas para la transfusión.

Resumen Comunicación Científica - ORAL PANEL

Número: 059

ANTICOAGULADOS EN LA TERCERA EDAD

Autor/a/s: MIRANDA ALFARO GLORIA, QUESADA GARCÍA MARIA JOSÉ, HERNÁNDEZ ASENSIO PILAR, ANDRÉS CERCADILLO ANA,

Centro de trabajo: HOSPITAL SANTA BÁRBARA DE SORIA

Localidad: SORIA

Correo electrónico del primer firmante: gmirandaalfaro50@hotmail.com

RESUMEN:

La provincia de Soria figura entre las provincias con la población más envejecida del territorio nacional. Los resultados estadísticos reflejados en el padrón de 2014 demuestran un incremento de edad de siete decimas en la edad media de la población soriana respecto a la estadística del año 2011, un incremento que deja a la provincia de Soria como la sexta con mayor edad del territorio nacional.

OBJETIVO:

Realizar un estudio sobre los pacientes de las residencias de ancianos que han pasado por nuestro laboratorio en el periodo de tiempo del 1 de junio 2014 al 1 de enero del 2015, en el área sanitaria del hospital Santa Bárbara de Soria y analizar los resultados obtenidos en función de su sexo y patologías.

Se estudiaron un total de 143 pacientes con 1725 muestras recibidas en tubo vacutainer cuyo anticoagulante es citrato de sodio.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La metodología utilizada basada en soporte informático, consiste en registrar los pacientes dividiéndolos entre hombres y mujeres y sus

patologías a estudio, mediante una regla C.A.R.

Separamos los pacientes por patologías :

Arritmia cardiaca por fibrilación auricular (ACXFA); trombosis venosa profunda mas tromboembolismo pulmonar (TVP+TEP); accidente cerebrovascular agudo (ACVA); insuficiencia cardiaca cognitiva (ICC) y prótesis valvular metálica.

Equipos de STA-R Evolution y reactivos STA APTT y PT (neoplastin plus) proporcionados por Roche

RESULTADOS:

se analizaron un total de 143 pacientes anticoagulados (55 hombres y 88 mujeres)

La patología de mayor incidencia es la ACXFA seguida de TVP+TEP

De los pacientes estudiados en este periodo de tiempo se reflejan los siguientes datos obtenidos

patologías		hombres	(%)	mujeres	(%)	
acxfa		27	50%	47	54%	
tvp+tep		9	17%	21	24%	
icc		3	6%	7	8%	
acva		0	0%	6	7%	
protesis valvular	2			1		

CONCLUSIÓN:

con los resultados obtenidos hemos podido constatar que la mayor incidencia en nuestros pacientes de la tercera edad es arritmia cardiaca por fibrilación auricular(52%) seguida de trombosis venosa profunda y tromboembolismo pulmonar (21%); insuficiencia cardiaca cognitiva (7%); accidente cerebrovascular agudo (5%) y prótesis valvular (2%).

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 063

PUESTA EN MARCHA DE UN TEST REFLEXIVO EN EL ESTUDIO DEL PERFIL FERRICO.- RESULTADOS EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGIA DE UN HOSPITAL COMARCAL

Autor/a/s: Galvez González, Inmaculada; De Cózar Perea, María Angeles; Vázquez Ontiveros, Esperanza; Jimenez Jurado, Olimpia

Centro de trabajo: Hospital del SAS

Localidad: La Línea de la Concepción (Cádiz)

Correo electrónico del primer firmante: inmagalvez@albatranslations.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Para intentar racionalizar el número de determinaciones analíticas que, en ocasiones, están poco justificadas y/o tienen escasa repercusión clínica, se vienen empleando los llamados Tests Reflexivos que condicionan la realización de una prueba o perfil analítico a la concurrencia de una serie de condiciones previas. En este sentido, analizamos los resultados obtenidos tras aplicar estos tests a las solicitudes del llamado Perfil Férrico (PF) en un laboratorio de Hematología de un Hospital Comarcal.

OBJETIVOS:

Se pretende cuantificar el impacto de la aplicación de un protocolo de test reflexivo sobre el número de determinaciones analíticas incluidas en el Perfil Férrico y su repercusión económica.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En junio de 2014 se implementó un programa de racionalización de algunas determinaciones analíticas que habían sufrido un incremento notable y que tenían una repercusión económica importante.

En este sentido, el conocido como PF (que comprende la medición del hierro sérico, la transferrina y la ferritina) nos aparecía como un objetivo que cumplía los requisitos previamente fijados. Basándonos en los protocolos auspiciados por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía para el diagnóstico y seguimiento de la Anemia ferropénica, se condicionó la realización del PF a determinados valores previos de la Hemoglobina y el Volumen Corpuscular Medio (VCM). En concreto, sólo se realizaría el PF a aquellas muestras cuyo nivel de Hemoglobina fuera <13 g/dl en los hombres o <12 g/dl en el caso de las mujeres. Además, en ambos casos, el VCM debía ser <82 fl. De manera adicional, tampoco se realizaría el PF si el paciente tenía un resultado previo en los últimos tres meses. Para ello se estableció el oportuno algoritmo en el Sistema Informático del Laboratorio (SIL)

Se informó previamente a los Centros de Salud y a los diferentes servicios hospitalarios de esta medida justificando su utilidad.

Adicionalmente se estableció un sistema de control de las solicitudes que eran rechazadas para evitar posibles desviaciones y que no quedaran infradiagnosticados algunos procesos (Sobrecargas férricas)

RESULTADOS:

Se analizó la variación en el número de determinaciones del PF desde su puesta en marcha en Junio de 2014 hasta Febrero de 2015 y se comparó con un periodo de tiempo similar del año anterior (junio de 2013 a febrero de 2014)

Parámetro	Junio 2013/ Febrero 2014	Junio 2014/ Febrero 2015	Variación (n)	Variación (%)
Hierro sérico	26.956	21.021	-5.935	-22 %
Transferrina	25.365	19.031	-6.334	-25 %
Ferritina	25.549	19.104	-6.445	-25 %
TOTALES	77.870	59.156	-18.714	-24 %

Calculado en euros, esta reducción supuso un ahorro global de 29.725 euros.

DISCUSIÓN:

La racionalización en las solicitudes de pruebas analíticas y en el consumo son uno de los objetivos de los laboratorios clínicos. En base a procedimientos aprobados por las sociedades científicas y previamente consensuados con los facultativos solicitantes, se instauró un protocolo para, mediante tests reflexivos, disminuir el número de estudios del PF no justificados clínicamente. Tras un periodo de seguimiento de 9 meses se ha constatado una disminución del 24 % en el total de determinaciones analíticas y un ahorro cercano a los 30.000 euros.

Estos resultados nos animan a implantar medidas similares en otros apartados del laboratorio de hematología que optimicen los recursos sin disminuir la calidad de la información y la asistencia al diagnóstico de los clínicos.

ESTUDIO PARA CONFIRMAR O DESCARTAR UN SINDROME MIELODISPLÁSICO (SMD) EN PACIENTES DE ETIOLOGIA NO FILIADA

Autor/a/s: Julia Martin Garcia, P.Fernández González, J.I. Vacas Recalde, M.J. Garcia Garcia B. Prieto Sainz, C. Rodriguez Herrero, J.M Bastida, O. López Godina; M. Diez Campelo

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO

Localidad: SALAMANCA

Correo electrónico del primer firmante: juliamartingore@gmail.com

RESUMEN:

Los Síndromes Mielodisplásicos (SMD) son un grupo de enfermedades clonales caracterizadas por una hematopoyesis ineficaz que determina la presencia de citopenias en sangre, y un riesgo de transformación a Leucemia Aguda Mieloblástica. La anemia es la citopenia más frecuente y suele ser el motivo de consulta en estos pacientes

OBJETIVOS:

El objetivo principal del estudio es realizar de forma prospectiva el diagnóstico o descarte de un SMD como causa de una anemia de etiología no filiada previamente.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio se llevó a cabo mediante la revisión de los hemogramas recibidos diariamente en el servicio de hematología durante 4 meses consecutivos. Un total de 60.655 hemogramas fueron revisados de los cuales 60.213 fueron eliminados por no contar con hematimetrías patológicas. 442 pacientes fueron seleccionados para estudio y finalmente en un total de 178 se inició el proceso de screening. Se analizaron en los contadores SYSMEX XE 2100, CELL-DYN SAPPHIRE. Los frotis se procesaron en CELLAVISION DM 96 y manualmente.

Se utilizaron los siguientes criterios de inclusión: Hb <12 g./dl; cualquier cifra de Hb con un VMC >100 fl; pacientes sin diagnóstico hematológico conocido, niveles de Vitamina B12 y Ácido Fólico normales; transaminasas y pruebas de función hepática (PFH) inferiores a 2 veces el valor normal y función renal normal o creatinina inferior a 2mg/dl y estudio del hierro normal.

RESULTADOS:

De los 178 pacientes en screening, 89 fueron excluidos por las siguientes causas: 44 por edad avanzada, 23 exitus, 16 por corrección de la anemia durante el estudio, 6 por pérdida de seguimiento.

De los 97 pacientes restantes se diagnosticaron 81 pacientes (83%) de anemia de causa no hematológica (57 Anemias Ferropénicas, 15 Anemias Megaloblásticas, 4 Hipotiroidismos, 3 Tumores Sólidos, 2 Anemias Hemolíticas), y 16 pacientes (17%) de anemia de causa hematológica: 5 Síndromes Mielodisplásicos, 3 Leucemias Agudas Mieloblásticas, 1 Leucemia Linfática Crónica, 2 Gammopatías Monoclonales, 1 Púrpura Trombótica Trombocitopénica, 1 Linfoma de Hodgkin, 1 Neoplasia Mieloproliferativa Jak2 negativa, y 1 Aplasia Medular

CONCLUSIONES:

Mediante nuestro estudio se demuestra que el seguir una correcta sistemática en el laboratorio en aquellos pacientes con anemia de etiología no filiada, permite llegar a un gran número de diagnósticos de causa de anemia. Si bien en su mayoría la principal causa de la anemia no fue por patologías hematológicas malignas sino de causa carencial (ferropenia y anemia megaloblástica como principales causas), este estudio ha permitido instaurar tratamiento dirigido específico de la anemia de estos pacientes así como comenzar el proceso diagnóstico para filiar el origen de ese proceso carencial.

De los 5 pacientes diagnosticados de SMD se ha podido iniciar un seguimiento más adecuado e incluso un tratamiento precoz en aquellos casos indicados, lo que probablemente pueda tener un impacto en la calidad de vida y supervivencia de estos pacientes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 070

SOSPECHA DE ANOMALIA DE MAY HEGGLIN EN EL EXAMEN DEL FROTIS.

Autor/a/s: Vanessa Barragán López, Cristina Juan Lizana, Yolanda Díaz Martínez, Nuria López Galindo, Ines Rodríguez-Hernández, Teresa Ana Botín López, José Tomás Navarro Ferrando, Fuent santa Millá, Evarist Feliu.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Germans Trias y Pujol

Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: priminessie2222@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La anomalía de May-Hegglin pertenece a un grupo de síndromes ligados a la mutación en el gen MYH9, localizado en el cromosoma 22. Se caracteriza, a nivel citológico, por macrotrombocitopenia y por la presencia de inclusiones leucocitarias citoplasmáticas, que se tiñen de azul- gris con la tinción de May-Grünwald-Giemsa, similares a los cuerpos de Döhle. La trombocitopenia de May-Hegglin se transmite siguiendo un patrón autosómico dominante en la mayoría de los casos, aunque aproximadamente un 30% es la consecuencia de nuevas mutaciones o a mosaicismo, y ocurren en personas sin historia familiar previa. Las manifestaciones más comunes de los síndromes asociados a las alteraciones genéticas del gen MYH9, incluyen: hemorragias, pérdida de audición, afectación renal y cataratas.

OBJETIVOS:

Describir dos casos con anomalía de May Hegglin en un centro, detectados a partir de la observación en un frotis sanguíneo.

Casos clínicos:

- Paciente varón de 78 años con antecedentes de hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo II, enfermedad renal crónica en programa de hemodiálisis, cardiopatía isquémica y vasculopatía periférica. Presentaba una plaquetopenia familiar no filiada que se había estudiado en varios centros, sin diátesis hemorrágica asociada. Ingresó para realización de trasplante renal que se completó sin incidencias.

En el hemograma del ingreso se obtuvo un recuento de 24x10⁹/L plaquetas. Se realizó un frotis donde se observaron plaquetas de tamaño grande e inclusiones citoplasmáticas en neutrófilos similares a los cuerpos Döhle. Se realizó un aspirado medular que confirmó la presencia de inclusiones en neutrófilos, sin otros hallazgos. Ante la sospecha de anomalía de May-Hegglin se realizó el estudio del gen MYH9 que dio como resultado la presencia de la mutación con fenotipo 153650/153640/605249.

- Paciente varón de 19 años, diagnosticado a los 9 años de probable Púrpura Trombocitopénica Idiopática, con un recuento de 2x10⁹/L plaquetas, por lo que recibió tratamiento con corticoides sin respuesta. No presentaba diátesis hemorrágica. Acudió a urgencias por disnea, por lo que se diagnosticó de neumotórax leve. En el hemograma destacaba trombocitopenia con un recuento de 12x10⁹/L plaquetas. En el frotis se apreció anisotrombia con plaquetas gigantes pseudonucleadas, e inclusiones intracitoplasmáticas en neutrófilos similares a los cuerpos de Döhle. Ante la sospecha de macrotrombocitopenia

familiar, se solicitó estudio del gen MYH9, actualmente pendiente de resultados. Se verificó un recuento de 24.440 plaquetas/m³ en sangre periférica con doble marcaje CD41+ CD61, por citometría de flujo.

CONCLUSIONES:

- El examen citológico cuidadoso del frotis de sangre periférica permitió establecer con rapidez una sospecha diagnóstica y orientó el diagnóstico diferencial de macrotrombocitopenias en los dos casos descritos.

- En la anomalía de May Hegglin, de Sebastian, o de Fechtner (síndromes asociados a la mutación del gen MYH9), se observan unas estructuras semejantes a los cuerpos de Döhle, pero con una subestructura diferente. Ante toda macrotrombocitopenia familiar deben buscarse estas inclusiones.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 071

DIAGNÓSTICO DE RECAÍDA DEL MIELOMA MÚLTIPLE CON INFILTRACIÓN DE CÉLULAS PLASMÁTICAS ATÍPICAS MEDIANTE CITOLOGÍA DE LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

Autor/a/s: Nuria López Galindo, Vanessa Barragán López, Cristina Juan Lizana, Yolanda Díaz Martínez, Cristina Motlló Borrell, José Tomás Navarro Ferrando.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Germans Trias y Pujol

Localidad: Badalona

Dirección del primer firmante:

Correo electrónico del primer firmante: priminessie2222@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La infiltración del sistema nervioso central (SNC) por Mieloma Múltiple (MM) es infrecuente. El diagnóstico debe realizarse mediante punción lumbar (PL) y el estudio citológico del líquido cefalorraquídeo (LCR). La clínica es diversa y se debe sospechar en casos de bajo nivel de conciencia, parestesias, paresia, dolor lumbar, u otra clínica neurológica.

OBJETIVOS:

Presentar dos casos de diagnóstico de recaída en el sistema nervioso central de Mieloma Múltiple mediante la citología del líquido cefalorraquídeo.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Caso 1: Varón de 65 años con MM con respuesta al tratamiento de inducción y posterior trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas. A los cuatro meses del trasplante acudió por dolor intenso en ambas extremidades inferiores de características neuropáticas y paresia en la extremidad inferior izquierda. Los resultados de las pruebas realizadas no presentaron anormalidad exceptuando el estudio del LCR donde se identificaron células plasmáticas atípicas. La electroforesis del mismo, reveló componente monoclonal, estable hasta la fecha en sangre y orina. Se inició tratamiento combinado con quimioterapia sistémica e intratecal con buena respuesta inicial, pero a los 2 meses de finalizar el tratamiento el paciente presentó una nueva recaída en forma de leucemia de células plasmáticas con deterioro rápido y éxitus.

Caso 2: Mujer de 57 años con MM sin respuesta al tratamiento de tres líneas de quimioterapia y radioterapia. Consultó a urgencias por paresia facial central derecha y debilidad en hemicuerpo derecho. Se orientó el cuadro clínico como ictus isquémico, pero el estudio de imagen mediante tomografía y resonancia descartaron la isquemia.

Ante la falta de diagnóstico, se procedió al estudio del LCR que objetivó la presencia de células plasmáticas. Se inició tratamiento intratecal que fue ineficaz produciéndose el fallecimiento de la paciente.

RESULTADOS:

Caso 1: Infiltración de LCR por células plasmáticas un 90% de la celularidad de la muestra con fenotipo atípico: CD19+, CD56/CD117+ compatible con afectación de LCR por MM.

Caso 2: Presencia en LCR de un 73% de células plasmáticas, con fenotipo: CD38 de 71%, CD138 de 73% y CD45 de 87%. En sangre periférica se observó un 17% de células plasmáticas atípicas.

CONCLUSIONES:

- En el diagnóstico de la afectación del SNC por MM, la citología es esencial para el diagnóstico y se completa con la citometría de flujo.
- En estos casos, el tratamiento debe ser sistémico y dirigido al SNC mediante quimioterapia intratecal.
- El pronóstico en estos pacientes es pésimo y la supervivencia suele ser inferior a cuatro semanas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 073

UTILIDAD DEL DíMERO-D COMO BIOMARCADOR EN EL DIAGNÓSTICO DE ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL ASINTOMÁTICO

Autor/a/s: VILLARRUBIA MARTIN-VILLAMUELAS, ELVIRA; MORENO RICAS, CONCEPCIÓN; RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, INMACULADA; ESCOLANTE DE LA CRUZ, MIRIAM; GONZÁLEZ MONTES, ANA MARÍA; OPORITO LÓPEZ, LAURA; MENCIA GARCÍA, MARIA CARMEN; RUIZ GINÉS, MIGUEL ÁNGEL; OLIVÁN ESTEBAN, RAQUEL

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO DE TOLEDO

Localidad: TOLEDO

Correo electrónico del primer firmante: elvirubiamartin@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El aneurisma de aorta abdominal (AAA), es una dilatación focal, permanente e irreversible de la pared vascular, que abarca las tres capas de la arteria (íntima, media y adventicia) y que se presenta generalmente asintómicamente, siendo su principal complicación, la disección aórtica aguda (DAA), una urgencia vascular catastrófica que requiere de un diagnóstico y tratamiento precoz.

Afecta al 2,5 % de pacientes mayores de 60 años, con predominio masculino, siendo la incidencia de rotura de 6,3-8/100.000 habitantes (12,6% de AAA se rompen en varones menores de 65 años).

Sólo el 40% de los pacientes consiguen llegar al Servicio de Urgencias, presentando una mortalidad operatoria del 50% y una mortalidad global próxima al 80%.

OBJETIVOS:

- Valoración de un caso clínico de un paciente con niveles persistentemente elevados de dímero-D (DD), sin causa previa asociada y que tras la realización de estudios de imagen se confirma la presencia de AAA.

- Empleo de la medición de DD como posible biomarcador para diagnosticar o excluir esta silente patología vascular (AAA y/o DAA).

MATERIAL Y MÉTODOS:

Analizador: Coagulómetro ACL TOP® 500 TCS de Instrumentation Laboratory (Werfen Company).

Reactivos: Tiempo de Protrombina (TP), Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT), Factores de la coagulación (vía intrínseca y extrínseca), Fibrinógeno, DD y Reptilase.

Centrifuga: Kubota® Compact Tabletop 2420 (programación a 3500 rpm, 10', temperatura ambiente).

Muestra: Plasma del paciente, en su correspondiente tubo de coagulación (0,3 ml con citrato al 3,8%).

Aplicación: El método empleado para la determinación cuantitativa de Dímero-D en plasma humano citratado es un inmunoensayo turbidimétrico de partículas de látex automatizado en el ACL TOP®.

Principio: La degradación por plasmina de la fibrina estabilizada por el Factor XIIIa, genera derivados solubles que contienen el dominio DD. Las partículas de látex de poliestireno de tamaño uniforme, a las que se les ha unido el fragmento F(ab)₂ de un anticuerpo monoclonal altamente específico frente al dominio DD. Cuando se mezcla un plasma que contiene DD con el reactivo látex y el tampón de reacción, las partículas aglutinan. El grado de aglutinación será directamente proporcional a la concentración de DD contenido en el plasma. Los agregados causan un descenso de la luz transmitida (inmunoensayo turbidimétrico).

RESULTADOS:

Hemograma con perfil férrico, pruebas bioquímicas (incluido estudio de conectivopatías) y serológicas (VHB, VHC, VIH y Treponema Pallidum), dentro de la normalidad.

Con respecto al estudio de coagulación que incluye: Tiempo de Protrombina (TP), Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (APTT), Factores de la coagulación (vía intrínseca y extrínseca), Fibrinógeno, DD [cut-off de 450ng/ml (0,0- 255,0)], Tiempo de Reptilase y plaquetas, se observa la elevación de los niveles de DD de forma persistente y progresiva (Octubre 2013: 681 ng/ml, Diciembre 2013: 808 ng/ml, Abril 2014: 868 ng/ml).

La dosificación de los factores de la vía intrínseca (Factor VIII, Factor IX, Factor XI, Factor XII), el estudio de anticoagulante lúpico (Tiempo de Kaolin, test del veneno de víbora de Russell, anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM, anticuerpos IgG e IgM antibeta-2-glicoproteína I plasma) y el estudio de trombofilia (antitrombina III, proteína C, resistencia a la proteína C activada, proteína S libre antigénica, gen del factor 20210 A de la protrombina, homocisteína) fueron completamente normales.

CONCLUSIONES:

El DD puede ser un importante biomarcador que ayude al diagnóstico y valoración de forma precoz y en fase asintomática de afectación vascular subyacente (AAA y/o DAA), pudiéndose relacionar el valor de dicha concentración con el tamaño del coágulo. El valor semiológico de esta magnitud, radica en su alto valor predictivo negativo (VPN).

Por último, destacar, que el paciente sufrió un ictus isquémico donde la concentración del DD se elevó durante la fase aguda y que, elevadas concentraciones se asocian con alto riesgo de recurrencia, y, por lo tanto, a un peor pronóstico y, aumento de la mortalidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 081

ESTABILIDAD DEL I.N.R. EN EL ENFERMO ONCOLÓGICO

Autor/a/s: LAPUEBLA VIEL CONSUELO, MONGE CAMACHO MARIA DEL PATROCINIO, MONGE RIOS MARIA JOSE, LAMA RUFIAN MERCEDES

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALM E

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: ansares1991@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

- La enfermedad tromboembólica venosa constituye una de las complicaciones más frecuentes en los pacientes oncológicos, puesto que existen una serie de factores asociados como, tipo de tumor, tratamiento, intervenciones quirúrgicas, ser portador de un catéter, sedentarismo y reposo. Por lo que el tratamiento a largo plazo consiste en la administración de anticoagulantes orales, siendo la estabilidad del INR lo que tratamos de abordar para evitar complicaciones como sangrado y trombosis de repetición.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Hemos estudiado 41 pacientes oncológicos (19 hombres y 22 mujeres), con edades comprendidas entre 39 y 91 años (media de 62.4 años), cogidos al azar entre los años 2013 y 2014 diagnosticados de TVP y/o TEP confirmado mediante la realización de un Ecodoppler o un TAC, se les realizó un estudio de coagulación inicial: TP, TPTA, INR, FIBRINOGENO Y DIMERO D más seguimiento del INR una vez instaurado el tratamiento con anticoagulante oral.

RESULTADOS:

Del total de los 41 pacientes estudiados, tenemos los siguientes porcentajes:

- Pacientes de un total del 100% hombres un 46.34% y mujeres un 53.66%
- Pacientes sin datos un 14,63% de los cuales 6,77% son hombres y el 7,86 son mujeres,
- Pacientes estables el 26,82% de los cuales el 12,42 son hombres y el 14,40 son mujeres,
- Pacientes inestables 58,55% de los cuales el 26,8% 6 son hombres y el 31,69 son mujeres.

Las pautas de anticoagulación oral fueron las siguientes:

- Con INR < 2 el 7,31% 12 mg y el 12,20 % 14 mg
- Con INR entre 2-3 < 12 mg el 12,20% y > 14 mg el 9,75%
- Con INR entre 4-7 < 12 mg el 12,19 % y > 14 mg el 9,75 %
- Con INR entre 8-11 < de 12 mg el 7,31 % y > el 0 %
- Con INR > 12 mg el 9,75 % y superior a 14 mg el 2,43 %

CONCLUSIONES:

existe un alto porcentaje de enfermos que necesitan el ajuste de dosis con mayor frecuencia que los enfermos con TVP y/o TEP no oncológicos, siendo necesaria la disminución de la dosis de anticoagulante paulatinamente, planteándonos en muchos casos, si deben seguir o no con la anticoagulación oral, influyendo en el estadio del carcinoma y del tratamiento al que está sometido no existiendo diferencias entre edad, tipo de cáncer ni sexo

Localidad: San Sebastián de los Reyes (Madrid)

Dirección del primer firmante:

Correo electrónico del primer firmante: mluzcosa@gmail.com

RESUMEN:

OBJETIVO:

Aplicar los avances tecnológicos del ensayo multicolor por citometría de flujo en estudio de linfoma de Hodgkin clásico y apoyar el diagnóstico realizado por Anatomía Patológica. Presentación de un caso

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se trabaja con una muestra en fresco de ganglio remitida desde el servicio de Anatomía Patológica al servicio de Citometría de flujo para estudio inmunofenotípico, del que se realiza un disgregado tisular y suspensión celular en suero fisiológico y filtrado del mismo. Se realiza el marcado con anticuerpos monoclonales (BD Biosciences), en tres tubos:

- 1-Identificación de Linfocitos y caracterización de población B (CD45, CD19, CD20, CD10, CD5, anti-Kappa y anti-Lambda)
- 2-Expresión proteína intracelular Bcl2 en población de linfocitos B, para descartar linfoma folicular.
- 3-Estudio de subpoblaciones linfocitarias T (CD45, CD3, CD4, CD8) y de los marcadores CD15, CD30 y CD71 para screening de linfoma anaplásico y Linfoma de Hodgkin.

La adquisición de las células se realizó en un citómetro de flujo digital BD FACSCantoTM II con 3 láseres y 8 fluorescencias mediante el programa BD FACSDivaTM. El análisis de los datos obtenidos, se realizó mediante el programa de análisis Infinicyt TM. (Cytognos).

RESULTADOS:

La muestra remitida contiene un 97.83% de población linfocítica, de la cual el 35.21% son linfocitos B con expresión policlonal de inmunoglobulinas, sin alteración de expresión en otros antígenos ni sobreexpresión de proteína Bcl2. Se detecta un 62.57% de población T (CD3+) con un ratio CD4/CD8 de 3.37. Dentro de la subpoblación T CD4 se encuentra que expresa CD30 en un 25% y CD71 en un 27%, que si bien es CD15 negativa, sugiere descartar como primera posibilidad Linfoma de Hodgkin.

El servicio de Anatomía Patológica en el estudio inmunohistoquímico, realiza diagnóstico de Linfoma de Hodgkin clásico, subtipo esclerosis nodular con muy leve fibrosis y focal patrón interfolicular.

CONCLUSIONES:

Teniendo en cuenta las limitaciones de la citometría de flujo para el estudio de células Reed-Sternberg debido a su gran tamaño, en este caso se consigue su identificación gracias a la agregación de los linfocitos T a la célula de RS permitiendo su detección mediante la expresión aberrante de CD30 y CD71 en la población linfocítica T CD4+. Posteriormente estos resultados fueron confirmados mediante el estudio anatomopatológico, por lo que la citometría de flujo podría resultar de interés al aportar resultados orientativos rápidos y permitiría considerar su participación en el diagnóstico de linfoma de Hodgkin clásico, en apoyo y colaboración de Anatomía Patológica.

BIBLIOGRAFIA

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 095

ESTUDIO DE LINFOMA DE HODGKIN POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN MUESTRA GANGLIONAR. PRESENTACIÓN DE UN CASO

Autor/a/s: María de la Luz Conejo Sánchez; Carmen Cabezón Bienes

Centro de trabajo: Laboratorio Central Comunidad de Madrid BR-Salud UTE/Hospital Infanta Sofía

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 117

ESTUDIO DE ALOANTICUERPO ANTI-D+C EN EMBARAZADA

Autor/a/s: ANA FLOR NAVARRO PLAZA, FRANCISCO GARCÍA TIRADOR, M. INÉS SERRANO FERNÁNDEZ

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (EHRN) se caracteriza por la destrucción de los hematíes del recién nacido por los anticuerpos presentes en la membrana de los hematíes de la madre. A pesar del éxito del programa preventivo con la administración de inmunoglobulina anti-Rh, el anticuerpo anti-D continúa siendo la principal causa de EHRN. De ahí la importancia de su correcta identificación en embarazadas Rh negativas, ya que excluye la necesidad de la administración del tratamiento profiláctico con Inmunoglobulina.

El antígeno anti-G está presente en casi todas las células D positivas o C positivas y ausente en las que son D negativas o C negativas. Pacientes D negativos que hayan estado expuestos a C positivo y G positivo pueden producir anticuerpos anti-D+C, dentro de estos podemos distinguir varias combinaciones: anti-D+C+G, anti-D+G, anti-C+G, anti-G y anti-D+C. De especial interés son los casos en los que aunque aparentemente las pacientes tienen un aloanticuerpo anti-D+C, sin embargo poseen un anti-G, pues sería necesaria la administración de inmunoglobulina.

CASO CLINICO:

Paciente de 41 años embarazo, tipificada con grupo sanguíneo A Rh D negativo, con 2 embarazos anteriores y sin antecedentes de transfusión previa. En la analítica de control de 1º trimestre (semana 11 de embarazo) el C. Indirecto da un resultado positivo aunque no se pudo confirmar anticuerpo. Se le pautan revisiones progresivas para determinar aloanticuerpo y titulación del mismo (véase cuadro de resultados). En la semana 37 se envía muestra a laboratorio de referencia para descartar la presencia de anti-G con resultado negativo. En la semana 37 se le induce parto por presentar preeclampsia. El RN tiene grupo sanguíneo O Rh D positivo y C. Directo Positivo, con una Bilirrubina Total de 18,7 mg/dl a las 48 h.

OBJETIVO:

Determinar la presencia de anti-D en el suero de la embarazada.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Para la determinación del C. Indirecto y la titulación de anticuerpos tarjetas DG Gel® Coombs (Grifols). Técnicas:

C. Indirecto: Para su realización se requiere una tarjeta DG Gel de AGH polivalente (DG Gel® Coombs)

1. Se seleccionan 3 pocillos y se identifican con su número correspondiente (I, II, III) y con la identificación del embarazado estudio.
2. Dispensar 1 gota de la suspensión de hematíes comerciales hemantígeno I, II, III en cada uno de los pocillos de la tarjeta.
3. Añadir 25 µl de suero de la paciente en cada uno de los pocillos.
4. Incubar la tarjeta a 37°C durante 15 minutos en incubador diana.
5. Centrifugar 9 minutos en la centrífuga diana y leer.

Titulación de anticuerpos: Se realiza la técnica a T.A. con un tubo de suero.

1. Rotular los tubos (1, 1/2, 1/4, 1/8, & 1/256)
2. Dispensar 30 µl de DG Gel sol en cada tubo a partir de 1/2.
3. Añadir 300 µl de suero del paciente en el 1º tubo y en el 2º. A partir de este último (1/2), y tras mezclar bien con la pipeta se extraen 300 µl y se pasan al siguiente (3º tubo) y así sucesivamente hasta el último tubo utilizando una pipeta limpia para mezclar y transferir cada dilución. Los últimos 300 µl se reservan por si se necesitaran más diluciones.

4. Rotular una tarjeta DG Gel® Coombs (Grifols), con las distintas diluciones en los pocillos.

5. Añadir en cada uno de los pocillos 1 gota de hematíes reactivo del panel de 11 células de Identisera Diana (Grifols), que contenga el antígeno D o C (dependiendo del anticuerpo a estudiar).

6. Añadir 25 µl de cada dilución en su correspondiente pocillo.

7. Incubar la tarjeta a 37°C durante 15 minutos en el incubador diana.

8. Centrifugar 9 minutos en la centrífuga para tarjetas DG Gel.

9. Leer los resultados. La última positividad es el resultado de la titulación.

RESULTADOS:

TITULACION	SEMANA 11	SEMANA 15	SEMANA 20	SEMANA 26	SEMANA 29	SEMANA 31	SEMANA 33	SEMANA 34
Anti-D	POS	1/2	1	1/4	1	1/64	1/128	1/32*
Anti-C	No se detecta	No se detecta	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2

* Prueba realizada en tubo. En tarjeta el resultado es de 1/512. Se tiene en cuenta el resultado en tubo

CONCLUSIONES:

La identificación de anti-D a lo largo del embarazo y la titulación del mismo es necesario para asegurar una estrecha vigilancia del RN desde el mismo momento del nacimiento.

En casos de embarazadas que presenten anti-D+C, aunque según la bibliografía la relacionada puede inducir a la sospecha de la presencia de un anti-G en lugar de un anti-D, es necesario un estudio que determine la presencia o no de anti-G, a pesar de los costes, para asegurar a la paciente una correcta administración de Inmunoglobulina, puesto que en el caso de confirmarse la presencia de anti-G hubiera sido necesaria su administración.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 119

PUESTA EN MARCHA DE UN TEST REFLEXIVO EN EL ESTUDIO DEL DEFICIT DE VITAMINA B-12 Y ACIDO FOLICO.- RESULTADOS EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGIA DE UN HOSPITAL COMARCAL

Autor/a/s: Galvez González, Inmaculada; Durán Sánchez, Inmaculada; Molina Rios, Gemma; Jimenez Jurado, Olimpia

Centro de trabajo: Hospital del SAS

Localidad: La Línea de la Concepción (Cádiz)

Correo electrónico del primer firmante: inmagalvez@albatranslations.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Con frecuencia se observa en los laboratorios clínicos un incremento mantenido en la demanda de determinados parámetros analíticos que no parece estar justificada por criterios estrictamente médicos. Para intentar racionalizar esta circunstancia han comenzado a aplicarse unos algoritmos que se incorporan a los Sistemas Informáticos de los Laboratorios (SIL). Estos sistemas, también conocidos como Test Reflexivos, permiten discriminar aquellas peticiones que no reúnen una serie de criterios que justifiquen la realización de las determinaciones analíticas solicitadas. En este sentido, analizamos los resultados obtenidos tras aplicar estos tests a las solicitudes de vitamina B-12 y

OBJETIVOS:

Se pretende cuantificar el impacto de la aplicación de un protocolo de test reflexivo sobre el número de determinaciones analíticas de vitamina B-12 y ácido fólico y su repercusión económica.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En junio de 2014 se implementó un programa de racionalización de algunas determinaciones analíticas que habían sufrido un incremento notable y que tenían una repercusión económica importante.

Basados en estos criterios, comenzamos aplicar un test reflexivo a las solicitudes de vitamina B-12 y ácido fólico. Revisada la literatura se condicionó la realización de estas pruebas a determinados valores previos de la hemoglobina y del Volumen Corpuscular Medio (VCM). En concreto, sólo se realizaría la B-12 y el ácido fólico a aquellas muestras cuyo hemoglobina fuera <13 g/dl en los hombres o <12 g/dl en el caso de las mujeres. Además el VCM debía ser >100 fl. De manera adicional, tampoco se realizarían estas determinaciones si el paciente tenía un resultado previo en el último mes. Para ello se estableció el oportuno algoritmo en el Sistema Informático del Laboratorio (SIL)

Se informó previamente a los Centros de Salud y a los diferentes servicios hospitalarios de esta medida justificando su utilidad.

En cualquier caso, se realizarían ambas determinaciones siempre que estuvieran justificadas de manera expresa por el facultativo solicitante en base a criterios clínicos (como estudio de deterioro cognitivo, por ejemplo)

RESULTADOS:

Se analizó la variación en el número de determinaciones de vitamina B-12 y ácido fólico desde su puesta en marcha en Junio de 2014 hasta Febrero de 2015 y se comparó con un periodo de tiempo similar del año anterior (junio de 2013 a febrero de 2014)

Parámetro	Junio 2013/ Febrero 2014	Junio 2014/ Febrero 2015	Variación (n)	Variación (%)
Vitamina B-12	7.473	2.525	-4.948	-66 %
Ácido fólico	6.961	2.446	-4.515	-65 %
TOTALES	14.434	4.971	-9.463	-65.5 %

Calculado en euros, esta reducción supuso un ahorro global de 34.321 euros.

DISCUSIÓN:

La racionalización en las solicitudes de pruebas analíticas y en el consumo forman parte de los objetivos de los laboratorios clínicos. En base a la revisión de la literatura científica y tras la oportuna información y el consenso con los facultativos solicitantes, se implementó un protocolo para, mediante tests reflexivos, intentar disminuir el número de solicitudes de vitamina B-12 y ácido fólico no justificados clínicamente. Tras un periodo de seguimiento de 9 meses se ha constatado una disminución del 65.5 % en el total de determinaciones analíticas y un ahorro de 34.321 euros.

Estos resultados nos animan a implantar medidas similares en otros apartados del laboratorio de hematología que consigan optimizar los recursos disponibles en nuestros presupuestos sin disminuir la calidad de la información y la asistencia al diagnóstico de los clínicos.

SCREENING DE SÍFILIS EN DONANTES DE SANGRE

Autor/a/s: Carmen Botana Couselo, José Antonio Castro Fandiño, Sonia Roca Orosa, Mar Alonso García, Ana Belén Abuín Otero, Sandra Barallobre Naya, Melania Gómez Barral, Ana Del Rio Garrido, Sandra Pérez González.

Centro de trabajo: CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA

Localidad: SANTIAGO DE COMPOSTELA

Correo electrónico del primer firmante: mcarmenbotana@hotmail.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los Centros de Transfusión orientan sus actividades y objetivos en la calidad y seguridad de toda la cadena transfusional. Las pruebas serológicas de sífilis se encuentran entre las determinaciones a realizar en la investigación de enfermedades transmisibles, según el anexo III del Real Decreto 1088/2005 que recoge los requisitos de verificación para las donaciones de sangre total y componentes. La enfermedad se adquiere por vía sexual, de forma congénita o a través de la sangre, por transfusión o inoculación.

OBJETIVO:

La transmisión de la sífilis, ocasionada por el *Treponema Pallidum*, ocurre de forma excepcional por vía transfusional. El patógeno en sangre se destruye en aproximadamente 72 horas, durante la conservación de la unidad a 4° C. Por ello, resulta muy difícil el contagio a través de los concentrados de hematíes, aunque las unidades de plaquetas que se mantienen a 22° C hasta su administración, serían los hemocomponentes más vulnerables.

Describiremos y analizaremos las técnicas y resultados en el screening de sífilis en donantes de sangre, realizados en el laboratorio de Procesamiento de un Centro de Transfusión durante el año pasado y su correlación con los test complementarios de confirmación.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Los análisis se han realizado en rutina sobre plasma sobrenadante de edta, mediante el test Biokit Syphagen TPHA auto®, de hemaglutinación pasiva en microplaca para la determinación cualitativa de anticuerpos específicos de *Treponema Pallidum*, adaptada al equipo PK-7300® de Olympus® (actual Beckman-Coulter®). Las determinaciones inicialmente reactivas, se han repetido por duplicado en suero y también en el plasma de la bolsa de sangre. Finalmente las muestras repetidamente reactivas se envían al laboratorio de Control de Calidad, en tanto que la unidad de sangre se desecha y el donante debe diferirse para la donación.

Se realiza entonces el test treponémico Serodia TPPA-Fujirebio®, basado en el ensayo de aglutinación utilizando partículas recubiertas con gelatina patógena *Treponema pallidum* (cepa Nichols) purificada. Estas partículas son aglutinadas en presencia de anticuerpos frente a la bacteria en el suero/plasma humano. Esta técnica permite asimismo realizar diluciones de las muestras reactivas, expresando un título que define la intensidad de la reacción.

RESULTADOS:

Durante el 2014 se han analizado 111.252 unidades de sangre, siendo repetidamente reactivas por TPHA 53 unidades, lo que representa un 0,047%, de las cuales se han confirmado por TPPA, 45 unidades (0,040%). Estos resultados muestran una buena correlación entre ambas pruebas. No se ha comunicado, como cabía esperar, ninguna transmisión de sífilis por vía transfusional.

CONCLUSIÓN:

La sistemática del Centro de Transfusión para el screening y confirmación de sífilis en donaciones de sangre, mediante los test treponémicos Biokit Syphagen TPHA auto® y Serodia TPPA-Fujirebio® resulta satisfactoria y ofrece una garantía de seguridad en la prevención de enfermedades transmisibles por transfusión. Ambas pruebas muestran una adecuada correlación en los resultados obtenidos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 124

DIAGNOSTICO DE UN LINFOMA B DIFUSO DE CELULAS GRANDES MEDIANTE UN LIQUIDO PLEURAL

Autor/a/s: Carmen Guillen Esteban, Mercedes Paredes. Dolores del Cerro, Alba Lozoya,

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO -MOSTOLES

Localidad: MOSTOLES

Correo electrónico del primer firmante: brevas3@hotmail.com

RESUMEN:

El linfoma mediastínico es un subtipo de linfoma de células B grandes de origen tímico que tiene características peculiares.

Representan aproximadamente el 2-4% de todos los linfomas no-Hodgkin y el 6-13% del total de linfomas de células B grandes. La incidencia es mayor en mujeres (ratio 2:1) y ocurre más frecuentemente entre los 30-40 años de edad.

La mayoría de los pacientes presentan enfermedad localizada con síntomas producidos por la masa mediastínica (tos, dolor, disfagia, síndrome de vena cava superior, edema facial). Sólo el 20% se presentan en estadio III/IV al inicio de la enfermedad. Puede haber afectación extranodal (médula ósea) en el momento del diagnóstico y de otros sitios (sistema nervioso, riñones) sobretodo en los casos de recaída. El tamaño voluminoso de la masa (mayor de 10 cm.; bulky) suele ser común, pudiendo infiltrar localmente pulmón, pleura, pared torácica, pericardio y producir taponamiento cardíaco y/o derrame pleural

OBJETIVO:

Llegar al diagnóstico de tumor por medio de un líquido pleural a través de las distintas pruebas de laboratorio ratificada por Anatomía Patológica

MATERIAL Y MÉTODOS:

Mujer de 35 años que acude al servicio de urgencias por presión torácica de un mes aprox de evolución, disnea de esfuerzo y dolor abdominal HD, sin AP de interés.

Se le realiza un hemograma una coagulación, bioquímica y serología. Como pruebas complementarias Rx de tórax TAC.

RESULTADOS:

Hemograma: Leuc 7200, Hb 10.1, P 264.000; DD 4.87; LDH: 297; Beta2m: & Serologías (VIH, VHB, VHC, lúes): neg EKG S1, Q3, T3 patrón sobrecarga VD. Rx de tórax: ensanchamiento mediastínico, derrame pleural izquierda: masa de gran tamaño en mediastino y hemitórax izquierdo, derrame pleural PET: afectación supra diafragmática RM: masa mediastínica, infiltración pericardio y ambas aurículas, infiltración pleural.

A raíz de los resultados se hace una extracción de líquido pleural que se distribuye por distintos laboratorios. Con el Líquido pleural enviado a hematología (sin centrifugar) se realizan frotis y se tiñe con hematek (teñidor automático) a continuación se mira al microscopio

20X, 40X observando una población linfocítica de tamaño medio-grande con alta relación N/C, cromatina laxa, presencia de nucléolos y citoplasma basófilo con presencia de vacuolas. (Ver fotos). A la vez se prepara parte de la muestra siguiendo los distintos pasos de la técnica para realizar citometría de flujo cuyos resultados son. CMF: CD19+ CD20+, CD22+. CD79b+, CD5-, CD10- (ver graficas)

Parte del líquido se mandó al laboratorio de anatomía. Que mediante la técnica de Bloque celular con parafina dio los siguientes resultados. IHQ: CD20+, ciclinaD1 neg, bcl2+, bcl6+, MUM1+, CD10-, Ki67 > 90%. confirmaron el diagnóstico. proceso linfoproliferativo con inmunofenotipo concordante con LBDCG de tipo no centro germinal*

CONCLUSIONES:

Una vez realizadas distintas pruebas en varios laboratorios en un líquido pleural (extensiones, citometría de flujo) y sobretodo la confirmación por anatomía patológica hizo posible que se diagnosticara el linfoma B con afectación mediastínica bulky no siendo necesaria una prueba más invasiva para la enferma.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 141

INACTIVACIÓN DE POOL DE PLASMAS CON AMOTOSALENO

Autor/a/s: Maria Garrido Gumiel, Laura Torre Ruiz, Tamara García Calle, Beatriz García Timón, Carmen Terrados Valderas

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: mjgarrido00@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El sistema de inactivación con psoralenos y luz UVA para el tratamiento de componentes del plasma, pretende reducir el riesgo de transmisión transfusional de virus, bacterias y parásitos, así como minimizar el riesgo de efectos adversos debidos a la transfusión de leucocitos contaminantes del donante. Actualmente se utiliza esta tecnología en el Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid (CTCM), para la inactivación de pools de plasmas, procedentes de sangre total (ST)

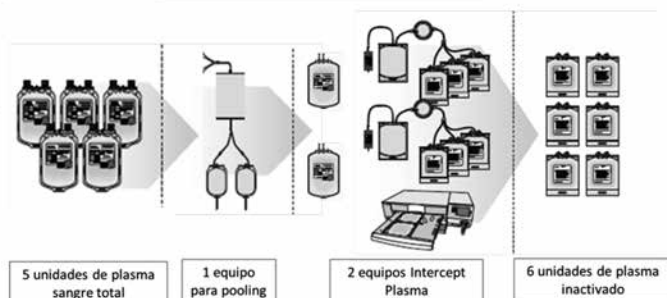
OBJETIVO:

Descripción del procedimiento de inactivación de pools de plasmas y resultados de los test de coagulación valorando la pérdida de factores, en cada una de las etapas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Durante el año 2014 se fraccionaron en el CTCM, 209.912 uu de ST, bolsas Top & Bottom (CPD/SAG-M), con filtro de leucodeplección (Fresenius Kabi), y se inactivaron en el propio centro 21.534 uu de plasma procedentes de ST, mediante el sistema INTERCEPT (Cerus). El amotosaleno se intercala en las regiones helicoidales del ADN y ARN y al iluminarlo con luz UVA, forma enlaces covalentes con los ácidos nucleicos bloqueando su funcionamiento. En la primera etapa del proceso se seleccionan 5 plasmas isogrupo que se conectan mediante conexión estéril (TerumoBCT) al equipo Plasmix (Grifols) obteniendo un pool de plasmas que se separa en 2 uu de pool secundarios. Cada uno de estos pools, se conecta mediante sellado estéril, al equipo de inactivación, que consta del amotosaleno, una bolsa de iluminación, un dispositivo de adsorción (CAD) y 3 bolsas almacenamiento de plasma inactivado. Después de añadir el amotosaleno, se procede a la iluminación (luz UVA) del pool, luego el plasma iluminado fluye por

acción de la gravedad a través del CAD, al interior de los recipientes de almacenamiento, obteniéndose así, 6 uu de plasma inactivado.



RESULTADOS:

Se realizaron 12 determinaciones de FVIII (STA-Roche APTT) y de Fibrinógeno (STA-FIB. Método CLAUS) en distintas fases: T0 (test realizados en el pool inicial), T1 (muestras del pool post-inactivación), y T2 (muestras en plasma unitario descongelado a los tres meses de congelación), con los siguientes resultados:

	FACTOR VIII					
N=12	T0	T1	T2	T0-T1 pérdida (%)	T1-T2 pérdida (%)	T0-T2 pérdida (%)
TOTAL	93,2	69,7	66,6	25,0	3,1	28,5
DS	19,1	14,9	11,6	7,4	9,9	10,1

	FIBRINOGENO					
N=12	T0	T1	T2	T0-T1 pérdida (%)	T1-T2 pérdida (%)	T0-T2 pérdida (%)
TOTAL	238,6	182,1	159,5	23,5	0,3	27,0
DS	34,4	26,3	24,7	4,5	8,8	4,7

CONCLUSIONES:

La inactivación de pools de plasmas con INTERCEPT incrementa sustancialmente la productividad al obtener

6 uu de plasma inactivado de 5 uu de plasma de ST. Se unifican los volúmenes finales y se estandariza el contenido de los factores de coagulación.

La pérdida de factores VII y fibrinógeno es inferior al 30 % cumpliendo con los criterios de calidad del Comité de Acreditación en Transfusión (CAT)

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 143

ANÁLISIS DEL TRATAMIENTO ANTIAGREGANTE PLAQUETAR CON EL AGREGÓMETRO MULTIPLATE. EXPERIENCIA DE UN CENTRO.

Autor/a/s: Lidia Maria Ruiz Garcia, Ana Lucia Galiano Alcalá, Minerva Raya Corbacho, Sara Vergara Casamar, Ester Viñets Massa, Ariadna Jiménez Ponce, Elisa Orna Montero, Fuensanta Millá Santos

Centro de trabajo: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: lili_rg_81@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Multiplate® mide cambios en la resistencia al paso de corriente cuando las plaquetas se depositan sobre un electrodo recubierto de plata, proporcionando información sobre su capacidad para agregarse (agregometría por impedancia). Los fármacos antiagregantes pretenden disminuir esta capacidad para dificultar la formación de trombos. Asegurar una correcta agregación plaquetar podría reducir la incidencia de acontecimientos adversos graves.

OBJETIVO:

Revisar los resultados obtenidos en el análisis de muestras de pacientes con tratamiento antiagregante plaquetar procesadas en el agregómetro Multiplate®.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se analizaron los resultados de los estudios realizados con Multiplate® en nuestro centro a pacientes con tratamiento antiagregante entre Enero de 2013 y Diciembre de 2014. Para realizar el análisis se utilizó sangre total anticoagulada con hirudina a temperatura ambiente, procesada en un plazo máximo de 4 horas después de la extracción. Los reactivos utilizados fueron TRAP test (TRAP-6), ASPI test (Ácido araquidónico) y ADP test (ADP).

En pacientes antiagregados con AAS se esperan resultados de ASPI test <40U (N 71-115), en pacientes en tratamiento con inhibidores directos del receptor del ADP el valor esperado de ADP test es <47U (N 57-113), y TRAPtest se espera dentro del rango normal (84-128) en ambos casos.

RESULTADOS:

Se realizaron 47 estudios en 37 pacientes durante el período especificado. 23 (62%) fueron hombres y 14 (38%) mujeres. Mediana de edad 62 años [19-78].

En 15 (40%) pacientes la indicación del tratamiento antiagregante fue la colocación de un stent carotideo, en 14 (38%) embolización de aneurisma cerebral, 4 (11%) trombosis de stent coronario, 2 (5%) tratamiento endovascular de una disección carotidea, 1 (3%) trombosis de stent carotideo y 1 (3%) prevención secundaria de ictus isquémico.

En todos los estudios realizados el paciente seguía tratamiento con inhibidores del receptor del ADP (clopidogrel) 29 (62%), ticlopidina 11 (23%), prasugrel 6 (13%), y ticagrelor 1 (2%). En 40 (85%) de los estudios el paciente seguía además tratamiento con AAS y en 1 (2%) con Trifusal.

En el total de los estudios realizados, la mediana de resultados de ASPItest fue 22U [2-89], de ADPtest 34U [8-94], y de TRAPtest 105U [43-198].

En 4 (10%) de los estudios de pacientes en tratamiento con AAS el resultado del ASPItest fue >40U. En 9 (31%) de los estudios con clopidogrel y en 2 (18%) de los estudios con ticlopidina el ADPtest fue >47U. En todos los estudios con prasugrel el resultado del ADPtest fue el esperado.

Únicamente uno de los pacientes presentó una complicación trombótica (trombosis del stent carotideo) a los 32 días de su implantación; los valores de ASPItest y de ADP test habían sido los esperados (33U y 34U respectivamente).

CONCLUSIONES:

En nuestra revisión se detectó actividad antiagregante en el 90% de las muestras con AAS y en el 77% de las muestras con inhibidores del receptor de ADP. Multiplate® resulta útil para conocer de forma rápida y sencilla si existe actividad de los fármacos antiagregantes. Sin embargo, son necesarios más estudios que analicen la repercusión de estos resultados a nivel clínico en los pacientes.

Teniendo en cuenta los valores de normalidad llegamos a la conclusión de que en la mayoría de los casos los pacientes que necesitan este tipo de tratamientos antiagregantes responden bien, reduciendo posiblemente la incidencia de acontecimientos adversos isquémicos graves.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 144

ANTICUERPO ANTI-D CLASE IGG EN DONANTE JOVEN SIN ANTECEDENTES OBSTETRICOS NI TRANSFUSIONALES PREVIOS

Autor/a/s: María Ángeles Balmaseda Serrano, Luisa María Tiesa Cieza, Mercedes Fuentes Martínez, Caridad Morales Encinas, Araceli Ledesma Moraga, Julián Ruiz-Escribano Huertas, María del Pilar Menéndez Pineda, Eva María González Sánchez, Esmeralda Castellanos García.

Centro de trabajo: Centro de Transfusión del Hospital General Universitario de Ciudad Real

Localidad: Ciudad Real

Correo electrónico del primer firmante: maras00@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los Anticuerpos Anti-D pertenecen a los Anticuerpos Anti-Rh. La mayoría de los anticuerpos Anti-D suelen ser inmunes como resultado de la exposición a eritrocitos humanos por gestación/transfusión. En raras ocasiones pueden presentarse de forma natural sin sensibilización previa? Estos anticuerpos son muy importantes por su implicación en las reacciones transfusionales y en Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido. A los donantes es obligatorio realizar el Estudio de grupo ABO, Rh (D) y la existencia de Anticuerpos Irregulares para evitar reacciones transfusionales y sensibilización para pacientes que van a recibir esa sangre.

CASO CLÍNICO Y MÉTODOS:

Donante por 1ª vez, mujer de 18 años, sin antecedentes personales de interés, no patologías previas, no medicación, no cirugía, ninguna historia de transfusión de componentes sanguíneos ni otros hemoderivados, no consumo de drogas vía parenteral, no antecedentes obstétricos.

20 días antes de la donación de sangre se administro la 3ª dosis de la vacuna del virus del papiloma humano Gardasil®

Tras la donación se le realizaron pruebas serológicas obligatorias (VHB, VHC, VIH, TPHA) con analizador Architect que fueron negativas. Se realizó Técnica de PCR para los Virus Hepatitis B, C y VIH también negativas. Se realizó Estudio de grupo ABO y RH (D) y Escrutinio de Anticuerpos Irregulares en el Autoanalizador Galileo. La donante es A Negativo y el EAI fue positivo. Se procedió a técnica de identificación de Anticuerpos irregulares con técnica de gel con panel identisera de 11 células con tarjeta diana a coombs: el resultado fue: anticuerpo Anti-D con alta positividad (3+), se realiza titulación de anticuerpo con técnica de gel con obtención de título elevado 1/2048. Se comprueba con técnica en tubo con panocell-10 (immucor) donde se confirma Anticuerpo Anti-D. Se realiza titulación con resultado de 1/512. El panel realizado en frío a 4°C con técnica en tubo negativo. Test de Coombs Directo Poliespecifico en tubo y tarjeta diana es negativo así como el Autocontrol. Todas estas pruebas se repiten con nueva muestra confirmando el resultado previo y se tiene entrevista confidencial con la donante para realizar interrogatorio y estudio de antecedentes previos, historia e investigación de la posibilidad de sensibilización

previa. Niveles de B-HCG son negativos. Se envía a Centro de Referencia Nacional en Estudios Inmunohematológicos a BCST para confirmar resultados y realizar técnica con 2-mercaptoetanol y descartar la naturaleza Ig M de estos Anticuerpos al no existir sensibilización previa que justifique su aparición. En el BCST se repiten similares resultados con EAI positivo frente a hematies tratados enzimáticamente y en fase de antiglobulina con título elevado de Anticuerpo Anti-D y técnica de 2-mercaptoetanol confirma la clase Ig G del Anticuerpo Anti-D descartando la especificidad anti-Lw que pudiera simular un anti-D.

DISCUSION:

Estamos ante la detección de un Anticuerpo Anti-D clase Ig G inmune a título Alto sin antecedentes claros de sensibilización previa por transfusión/antecedentes obstétricos, únicamente la vacunación del VPH en el mismo período que la donación de sangre. Esta vacuna (Gardasil®) lleva la proteína L1 en forma de partículas similares al virus producidas en levadura (*Saccharomyces cerevisiae* CANADE 3C-5 cepa 1895 por tecnología del ADN recombinante, ¿podría haber ejercido como posible efecto antigénico? para la sensibilización como lo ejercen las distintas plantas y en el caso de los anticuerpos Anti-A y Anti-B del grupo ABO.

CONCLUSIÓN:

Habría que notificar este posible efecto adverso de esta vacuna del VPH (Gardasil®) para su estudio y confirmación, registrando existen mas casos.

Si se demostrase relación habría que sustituir esa vacuna por otra que no tuviese en su base una levadura y si no hubiese alternativa habría que plantear la realización de inmunoprofilaxis con gammaglobulina Anti-D en mujeres Rh (D) negativas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 145

ANÁLISIS SISTEMÁTICO DE LAS INCIDENCIAS QUE CAUSAN LA BAJA DE UNIDADES DE SANGRE TOTAL

Autor/a/s: Varela Fernandez, Jose A. Vázquez Castro, Marcos. Goas Ferreira, MªCarmen. López Lemos, Mª Jose. Delgado Vega, Azucena. Dopico Veiga, Eva. Fuentes Vilanova, Beatriz. Prado Riveiro, Silvia. Vázquez Bertoa, Mª Carmen.

Centro de trabajo: CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA

Localidad: SANTIAGO DE COMPOSTELA

Correo electrónico del primer firmante: joseangel.varela.fernandez@sergas.es

RESUMEN:

OBJETIVO:

Reflejar nuestra experiencia en el seguimiento de las unidades de sangre total (ST), que no cumplen criterios para el procesamiento, por causas que se detectan a la recepción en el centro de transfusión y en su procesamiento inicial.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizan los datos de los últimos 4 años en relación con la extracción de ST y las causas que están implicadas en que se desestime el procesamiento de la misma. Estas desviaciones se detectan a la recepción en la Unidad de Fraccionamiento y son: déficit de peso (DP), exceso de peso (EP), circuito abierto (CA) por sellados incorrectos o porque ya venga señalado desde hemodonación, donación de riesgo (DR) generalmente por información del donante postdonación. Existen

otras dos situaciones, que obligan a no utilizar la ST, y son la filtración incorrecta (FI) de la sangre total en las bolsas con tal configuración, y la posible rotura (RO) de la bolsa en la centrifuga.

RESULTADOS:

en la tabla se muestra la evolución del porcentaje de unidades no admitidas y las causas de rechazo en el periodo 2011-2014

	año 2011	año 2012	año 2013	año 2014
Total de donaciones ST	108.694	107.771	107.314	104.598
% unidades con DP+EP	1.21	1.35	1.48	1.48
% unidades con CA	0.10	0.08	0.08	0.06
% unidades con DR	0.009	0.007	0.015	0.015
% unidades con FI	0.31	0.12	0.12	0.08
% unidades con RO	0.06	0.05	0.04	0.06
%Total unidades de baja	1.69 %	1.61 %	1.66 %	1.69 %

El porcentaje de pérdidas más importante es por alteración de peso. Se hace especial observación en el proceso de filtración-colocación correcta del sistema-, se detectan coágulos macroscópicos en más del 80% de los casos de FI. Las incidencias de CA y RO se pueden considerar excepcionales.

CONCLUSIÓN:

el registro pormenorizado de las incidencias nos permite conocer donde están los puntos débiles para poder actuar sobre ellos, cuando es posible. Probablemente más acciones sobre la sistemática de trabajo y el rigor en la observación de los procedimientos debería tener reflejo en alguna mejora de los resultados.

partir de sangre total, en este periodo han sido tratados con tecnología de reducción de patógenos (Intercept®) y el plasma se selecciona de varón no transfundido y se trata con azul de metileno.

RESULTADOS:

en la tabla se refleja el número de los CS suministrados cada año

	C.de hematies	CH irradiado	C.Plaquetas total Aféresis+CPMT	Plasma
año 2010	108.047	2.743	14.695 (7.343+7.352)	16.660
año 2011	107.007	3.463	14.564 (6.810+7.754)	17.040
año 2012	106.455	3.129	14.568 (6.515+8.053)	17.932
año 2013	104.951	3.120	14.857 (6.288+8.569)	16.549
año 2014	102.173	2.785	15.430 (6.082+9.348)	12.871

CPMT= C. de plaquetas mezcla de 5 buffy coats

En líneas generales el comportamiento en el número de CS suministrado, es muy similar al que se registra en otros centros de transfusión nacionales. La disminución en el suministro de CH en este periodo es del 5.44% y obedece a que nuevas estrategias tanto tecnológicas como farmacológicas tienen repercusión en el consumo. En cuanto al plasma ha disminuido en los últimos años. Sin embargo el consumo de C.Plaquetas ha aumentado sobre todo en los 2 últimos años, esto ha supuesto un reto en la logística del área de producción de componentes, que ha tenido que aumentar la producción de pools en un 27.15% durante este periodo.

CONCLUSIÓN:

Es importante conocer y valorar estos datos para prever en parte la actividad, poder analizar las tendencias en el suministro no solo globales sino también por hospitales

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 146

EVALUACIÓN EN EL SUMINISTRO DE COMPONENTES SANGUÍNEOS-ÚLTIMOS 5 AÑOS-DESDE EL CTG

Autor/a/s: Vázquez Bertoa, M^a Carmen. García Nieto, M^a Soledad. Iglesias Otero, M^a Sol. Herranz Glez-Botas, Cristina. Suarez Pérez, Elena. Rodríguez Carreira, Fernando. Lourido Martínez, Lidia. Isasi Fernández, Fernanda. Guillán Rodríguez, Juan R. Carrillo Guerra, David. Varela Fdez, José A.

Centro de trabajo: CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA

Localidad: SANTIAGO DE COMPOSTELA

Correo electrónico del primer firmante: maria.carmen.vazquez.bertoa@sergas.es

RESUMEN:

OBJETIVO:

Conocer la tendencia en el suministro de componentes sanguíneos (CS) desde el CTG, que refleja la práctica transfusional en la Comunidad.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se ha analizado el suministro de CS a los Servicios de transfusión hospitalarios en los últimos 5 años, los datos se han obtenido a partir del registro informático del CTG. Todos los concentrados de hematies (CH) son leucodeplecionados, cuando se requiere componente irradiado se realiza en el propio centro. Todos los concentrados de plaquetas suministrados, procedentes de aféresis o de pool (5BC) a

Número: 148

ANTICOAGULANTE LÚPICO: ¿SE PUEDE DIAGNOSTICAR MEDIANTE UN ÚNICO TEST?

Autor/a/s: Machado González, María Ángeles; González Laguna, Soraya; García Furonés, Julia; Pérez Gutiérrez, Belén; Rodríguez García, José Antonio.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LEÓN

Localidad: LEÓN

Correo electrónico del primer firmante: celsagon@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El anticoagulante lúpico (AL) es un grupo heterogéneo de inmunoglobulinas IgG y/o IgM dirigidas contra fosfolípidos de carga negativa. Se asocian in vivo a fenómenos tromboembólicos, trombocitopenia y complicaciones gestacionales recurrentes, y pueden prolongar in vitro los tiempos de coagulación dependientes de fosfolípidos (fundamentalmente el TTPA). Debido a la heterogeneidad de anticuerpos que constituyen el AL, no hay ningún test que pueda identificarlo en su totalidad, por lo que su determinación continúa siendo un reto diagnóstico.

El comité de estandarización de la International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) recomienda: 1) la realización de dos ensayos diferentes dependientes de fosfolípidos considerando el dRVVT como test principal, 2) que se evidencie que la prolongación no se corrige en prueba de mezclas 1:1 con plasma normal y, 3) que se confirmen mediante los mismos tests de escrutinio usando altas concentraciones de fosfolípidos.

OBJETIVO:

Evaluar si realizar un único test, junto con el apoyo del estudio basal de coagulación, pudiera ser suficiente para el diagnóstico de AL.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron los 273 estudios que se interpretaron como positivos de entre los 1.016 realizados en los últimos 8 meses en nuestro laboratorio. Todas las muestras se procesaron en un analizador ACL TOP 700 (Werfen Group) tras una doble centrifugación para garantizar la ausencia de contaminación plaquetar como fuente de fosfolípidos. Se emplearon los reactivos: Kit Sílica Clotting Time (que incluye los reactivos SCT Screen, SCT Confirm y SCT CaCl₂), dRVVT Screen y dRVVT Confirm (HemosIL, Instrumentation Laboratory). En caso de existir un retraso en el estudio las muestras se mantuvieron congeladas a -80°C. Se interpretó como AL positivo cuando la Ratio Normalizada fuese $\geq 1,20$ en cualquiera de los dos ensayos, considerándose débil (ratio: 1,20-1,49), moderada (1,50-1,99) e intensa por encima de ese valor.

RESULTADOS:

La edad de los pacientes osciló entre 1-96 años (mediana de 60 años), con ligero predominio de varones (56,4%).

En 80 casos (29,3%) la única prueba alterada fue el SCT, en otros 99 casos (36,2%) lo fue únicamente el dRVVT, mientras que en 94 (34,4%) se observó alteración de ambas pruebas.

En 72 casos (26,4%) la existencia de un AL positivo no tuvo ninguna repercusión en el estudio basal de coagulación (EBC); mientras que en 194 (71,2%) originó un alargamiento del TTPA (ratio $>1,30$), en otros 40 (14,7%) estaba alterado exclusivamente el TP (INR $>1,30$) y en los 33 casos restantes (12,1%) lo estaban ambas vías de la coagulación.

La probabilidad de que si una de las determinaciones es intensamente positiva (ratio ≥ 2) la otra sea normal es baja, aumentando ésta de forma importante cuando la positividad es débil (tabla 1). El EBC fue completamente normal en el 25,3% (20/79) de los pacientes que únicamente presentaban dRVVT alterado y en el 39,4% (39/99) de los que únicamente la presentaban en SCT, siendo más frecuente este hecho cuando la positividad de los test era débil (tabla 2).

Ratio SCT	Probabilidad dRVVT normal	Ratio dRVVT	Probabilidad SCT normal
1,20- 1,49	60/84 (71,4%)	1,20- 1,49	81/130 (62,3%)
1,50- 1,99	18/56 (32,1%)	1,50- 1,99	16/53 (30,2%)
≥ 2	1/33 (3%)	≥ 2	2/10 (20%)

	TP +TTPA normales
dRVVT normal + SCT 1,20- 1,49 (60)	16 (26,7%)
dRVVT normal + SCT 1,50- 1,99 (18)	4 (22,2%)
dRVVT normal + SCT ≥ 2 (1)	0 (0%)
SCT normal + dRVVT 1,20-1,49 (81)	34 (42,0%)
SCT normal + dRVVT 1,50- 1,99 (16)	4 (25,0%)
SCT normal + dRVVT ≥ 2 (2)	1 (50,0%)

CONCLUSIONES:

En un 65,6% de los casos se muestra positividad en un único ensayo dependiente de fosfolípidos, siendo mayor la probabilidad de encontrar un único test alterado cuando la positividad es débil.

El TTPA fue el test de rutina más sensible, pero no se encontró ninguna alteración del estudio basal de coagulación hasta en un 26,4% de los casos.

Si únicamente se hubiese determinado el dRVVT, 20 casos (7,3% del total) hubiesen quedado sin diagnosticar, aún considerando las potenciales alteraciones del estudio basal de coagulación. Por tanto, consideramos que la recomendación de la ISTH de realizar un doble ensayo está plenamente justificada.

DESCONGELACIÓN DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS DE SANGRE PERIFÉRICA ALMACENADOS EN NITRÓGENO LÍQUIDO. CONTROL DE CALIDAD.

Autor/a/s: FERNÁNDEZ ANEIRO, MIGUEL; PÉREZ DUARTE, LUCIA ; CANABAL VÁZQUEZ, BELÉN; VÁZQUEZ CASTRO, MARCOS.

Centro de trabajo: Centro de Transfusión de Galicia

Localidad: Santiago de Compostela

Correo electrónico del primer firmante: miguel.fernandez.aneiros@sergas.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El trasplante de progenitores hematopoyéticos es uno de los métodos terapéuticos que más ha contribuido a la curación de los pacientes con diversas enfermedades oncohematológicas. El empleo de estas células movilizadas a sangre periférica ha sustituido en los últimos años de forma casi total a los obtenidos por aspiración medular.

La criopreservación de estas células es el procedimiento utilizado para mantenerlas en condiciones óptimas de viabilidad por largos periodos de tiempo. La caducidad de estos productos se supone indefinida debido a que el metabolismo celular se ha ralentizado al mínimo. La mayoría de los resultados publicados del control postdescongelación de progenitores hematopoyéticos criopreservados y almacenados durante largos periodos de tiempo se refieren a tubos pilotos o segmentos adheridos a las bolsas y no al producto total almacenado.

OBJETIVO:

Realizar el control de calidad (Recuento celular, Viabilidad por citometría de flujo y azul tripán, cultivo clonogénico y estudio microbiológico) de 18 bolsas de progenitores hematopoyéticos para autotransplante de pacientes oncohematológicos, criopreservados y almacenados en nitrógeno líquido durante una media de 10 de años (rango 3 meses a 20 años), y que fueron descongeladas tras el fallecimiento de los mismos.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Los progenitores hematopoyéticos ,recogidos por aféresis tras movilización a sangre periférica con diferentes regímenes de movilización, son almacenados a 4°C con agitación suave hasta su criopreservación, que tiene lugar en menos de 24 horas desde la extracción.

El producto es procesado, con el fin de reducir su volumen, mediante la retirada de plasma,utilizando un sistema cerrado (Sepax, Biosafe) o mediante centrifugación manual (con anterioridad al año 2008)

El crioprotector utilizado es el dimetilsulfóxido a una concentración final del 10%, mezclado con plasma autólogo o Medio 199+albúmina dependiendo de la patología del paciente.

Las muestras son congeladas en cámara de congelación programada y posteriormente almacenadas en nitrógeno líquido a -196°C.

Descongelación y control de calidad:

Las bolsas son retiradas del nitrógeno líquido y mantenidas durante 30 minutos en fase gas. Posteriormente se descongelan a 37°C en baño seco (Starsted).

Tras observación visual de la bolsa se procede a la toma de muestra para la determinación de los siguientes parámetros:

- Células nucleadas (Sysmex de Roche) para la determinación de la recuperación celular de las distintas poblaciones

- Viabilidad con azul tripán inmediatamente tras la descongelación y por criometría de flujo de las distintas poblaciones celulares mediante marcaje con CD45-FITC/CD34-PE/ 7-AAD (FACS-Calibur de Becton Dickinson).
- Funcionalidad celular mediante cultivo clonogénico (incubación 14 días a 37°C en estufa con 5% de CO₂): determinación cuantitativa y cualitativa de unidades formadoras de colonias.
- Cultivo microbiológico: 5 mL en frascos aerobio, anaerobio y fúngico. Incubación de 7 y 14 días en BACTEC de Becton.

Los protocolos utilizados son los descritos en los manuales correspondientes

Los resultados obtenidos en las bolsas descongeladas fueron comparados con los resultados precongelación.

RESULTADOS:

- La recuperación total de CNT fue del 99% y su viabilidad de 84% (AT) y 73% (7-AAD).
- No se observó una disminución significativa de la viabilidad a elevada concentración celular en el producto a congelar.
- Se observó una correlación inversa entre el % de gránulos previos a la congelación y la viabilidad.
- La recuperación de las células CD34+ viables así como la de las unidades formadoras de colonias no se vio afectada por el tiempo de almacenamiento.
- El control microbiológico de los productos criopreservados demostró que aquellos que presentaban una contaminación previa a la criopreservación, el resultado seguía siendo positivo en el producto descongelado, identificándose los mismos microorganismos
- En ninguno de los productos descongelados se observaron macroagregados.

CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos sugieren que la calidad, tanto en términos cuantitativos como cualitativos (funcionalidad), de las células progenitoras almacenadas en nitrógeno líquido en nuestro centro, cumplen los estándares exigidos para un producto que va a ser transplantado. Estos resultados no se ven afectados por el tiempo de almacenamiento.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 155

RENTABILIDAD DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR

Autor/a/s: Castillo Alonso, Alicia Juliana; Checa Domínguez, Sara; Terrores Gironés, Vanessa; Torres Romero, Silvia Cristina; Ruiz García, Lidia; Grau Cat, Xavier; Navarro Ferrando, Jose Tomás; Millá Santos, Fuensanta
Centro de trabajo: Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Laboratorio de Hematología
Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: guiguimaurel@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El lavado broncoalveolar (BAL) es un procedimiento sencillo y bien tolerado que permite obtener información de los constituyentes celulares de la superficie del epitelio del tracto respiratorio inferior, mediante instilación y posterior aspiración de suero fisiológico en uno o varios segmentos o subsegmentos pulmonares. La muestra de secreción real puede ser de 1ml de la muestra recuperada y apro-

ximadamente se obtiene de 1 millón de alveolos que representa el 1% de la superficie pulmonar. En nuestro centro hospitalario hemos estudiado 592 muestras de lavado broncoalveolar en los tres últimos años. En este trabajo mostramos nuestra experiencia y la rentabilidad del estudio citomorfológico en el BAL.

MATERIAL Y MÉTODOS:

592 casos de lavado broncoalveolar

Autoanalizador hematológico Coulter DxH800

Citocentrífuga: 500rpm / 10 minutos

Tinción May-Grünwald / Giemsa al 20%

Microscopio óptico

Citometría de flujo en 165 casos que presentaron linfocitosis igual o superior al 20%.

RESULTADOS:

427 casos fueron de predominio no linfocitario y 165 de predominio linfocitario. Por contaminación o escasez de la muestra no pudieron ser valoradas 16 muestras.

- Patología inflamatoria benigna en 525 casos (88%).
- En 8 casos se confirmó la orientación diagnóstica de hemorragia alveolar.
- Presencia de microorganismos en 29 muestras: hifas (2), Pneumocystis jirovecii (15) y gérmenes de pequeño tamaño (12).
- En una muestra se detectó la presencia de cuerpos de asbesto
- Se observó celularidad neoplásica en 13 muestras: adenocarcinoma de pulmón (11), un caso de infiltración por células de leucemia linfática crónica y otro de Histiocitosis X, posteriormente confirmada por citometría de flujo, (CD1a+).

CONCLUSIONES:

El estudio citomorfológico del BAL es un procedimiento rápido y eficaz, que aporta información importante para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 157

PROTOCOLO DE PROCESADO DE MUESTRAS CON SOSPECHA DE CRIOAGLUTININAS Y SU REPERCUSIÓN EN LOS DATOS DEL HEMOGRAMA EN EL HOSPITAL TERESA HERRERA

Autor/a/s: Barreiro Castro Belén, Rodil Ferreiro Rebecca, Ogea Gonzalez M^a Teresa, García Pose M^a Asunción, Couselo Noya M^a Jesús, Varela Mariño Mar.

Centro de trabajo: Hospital Teresa Herrera

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: belserena@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En las anemias hemolíticas inmunes, el organismo produce anticuerpos que actúan contra los hematíes determinando la hemólisis. A veces son autoanticuerpos, a veces la formación de anticuerpos puede ser secundaria a otras enfermedades o idiopática.

Las anemias por anticuerpos fríos comprenden el síndrome por crioaglutininas. Tienen la peculiaridad de activarse a temperaturas menores de 37°C porque a bajas temperaturas aumenta la afinidad de los anticuerpos por las proteínas de membrana del eritrocito, y por ello el nombre de Crioglobulinas.

Las manifestaciones clínicas aparecen cuando el paciente se expone al frío o ingiere alimentos o bebidas frías.

OBJETIVO:

Resaltar la importancia del conocimiento e identificación de estas muestras por parte del técnico de laboratorio, para el correcto tratamiento de las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS:

La muestra utilizada es sangre total en tubo de EDTA, el contador hematológico un ADVIA 2120 y un baño a 37°C. Los resultados se transmiten a través de un middleware (Hemalink) al programa de validación final de nuestro laboratorio (Servolab). Se ha hecho así mismo una revisión de la historia clínica de una paciente y bibliografía similar.

RESULTADOS:

El hemograma de la paciente presenta los siguientes datos en serie roja: Hematías 1.59 mill/mm³ (4.0-4.8), Hemoglobina 10.1 g/dl (12.0-16.0), Hematocrito 14.2% (36.0-45.0), V.C.M. 89.2 µm³ (80.0-99.0), H.C.M. 63.6PG (26.0-32.0), C.H.C.M. 71.3 g/dl (31.0-36.0).

Tras calentar la muestra durante 20-30 min a 37°C y procesarla de manera inmediata los valores son los siguientes : Hematías 3.91 mill/mm³ (4.0-4.8), Hemoglobina 11.9 g/dl (12.0-16.0), Hematocrito 37.7% (36.0-45.0), V.C.M. 86.2 µm³ (80.0-99.0), H.C.M. 30.4 pg (26.0-32.0), C.H.C.M. 35.3 g/dl (31.0-36.0).

Se informa como posible presencia de crioaglutininas, valores de Hto, H.C.M. Y C.H.C.M. se corrigen tras el calentamiento de la muestra. La paciente está siendo estudiada actualmente por el servicio de medicina interna.

CONCLUSIONES:

La presencia de crioaglutininas en una muestra de sangre afecta los resultados del Hemograma. Se puede observar discordancia entre los resultados de Hemoglobina, hematocrito y glóbulos rojos, así como el aumento de los índices hematimétricos (VCM, HCMO, CHCM). La alteración de los datos del hemograma puede revertirse con tratamiento previo de la muestra y consiste en incubar la muestra 30 minutos a 37°C y procesar inmediatamente.

El informe posterior de la posible presencia de crioaglutininas y sus resultados corregidos aporta información al clínico que podrá continuar el estudio de las mismas si la clínica del paciente es compatible con su presencia y filiar su origen.

causas de falsas trombopenias debidas a agregación plaquetar o fenómenos de satelitismo. Presentamos aquí un caso de falsa trombocitosis debido a la presencia de crioglobulinas en la muestra.

OBJETIVO:

Encontrar la forma de detectar falsos recuentos plaquetarios en muestras con presencia de crioglobulinas e informar el valor más aproximado al real con el fin de evitar errores diagnósticos, consultas y exploraciones innecesarias.

MATERIAL Y MÉTODO:

Muestra de sangre total extraída con EDTA de un paciente diagnosticado de hepatitis C y presencia de un pico monoclonal IgM.

Se procesa en el ADVIA 2120 de Siemens Health Care y, debido a las alarmas proporcionadas por el analizador, se decide realizar una extensión teñida con May Grunwald Giemsa en el propio equipo y llevar a cabo la revisión de la misma en el Cellavision DM 96 y microscopio óptico. Se observan imágenes compatibles con la presencia de crioglobulinas por lo que se repite el hemograma después de que la muestra haya estado 1 hora en el baño a 37° C y se obtienen resultados que confirman la sospecha inicial.

RESULTADOS:

Se realizó un hemograma en cuatro ocasiones durante el periodo de un mes, de las cuales dio alarma de plaquetas grandes en tres de ellas y en dos apareció la alarma de espectro de hematíes, gracias a esta última se realizó una revisión al microscopio óptico y ante la sospecha de la presencia de crioglobulinas se repitió el hemograma después de 1 hora en el baño a 37 ° C obteniéndose un descenso considerable en el recuento de plaquetas como se muestra en la siguiente tabla:

	Plaquetas frío	Plaquetas grandes/ VPM	Espectro hematíes	Plaquetas a 37°C
13/01/2015	1161	NO/11,5	+	391
21/01/2015	596	+++/14,2	NO	-
13/02/2015	707	+/12,9	+	248
19/02/2015	464	+++/13,1	NO	-

CONCLUSIONES:

Con la observación detallada de los datos que nos proporcionan los analizadores hematológicos se puede sospechar la existencia de resultados falsamente sobrevalorados del recuento plaquetar por presencia de crioglobulinas en la muestra, y con un sencillo procedimiento teniendo en cuenta las distintas alarmas que pueden aparecer y junto con la historia clínica del paciente, podemos obtener e informar resultados que se acercan más al valor real del recuento plaquetar.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 170

DETECCIÓN Y CORRECCIÓN DE FALSA TROMBOCITOSIS POR CRIOGLOBULINAS EN EL ADVIA 2120.0

Autor/a/s: LAURA GONZÁLEZ TEJERO, MELANIA PÉREZ PACHECO, EMILIA GÓMEZ RODRÍGUEZ, MIRIAM GONZÁLEZ JIMÉNEZ, JESÚS TORRADO GARCÍA, M^a MERCEDES RODRÍGUEZ GUTIERREZ

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: laura.gontej@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El recuento plaquetar en los analizadores hematológicos puede verse afectado por distintas interferencias, informándose, en ocasiones, falsas trombopenias y trombocitosis. Han sido más estudiadas las

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 177

RENDIMIENTO DEL CONTROL DE ESTERILIDAD DE LOS CONCENTRADOS DE HEMATÍES

Autor/a/s: Antonio Pérez Boo, Ana Aldrey Rey, Ana Baños Rodríguez, Sandra Costoya Coira, Javier Fernández Aneiros, Lourdes López Lama, María López Lías, Dolores Pereiro Raposo, Susana Pérez Duarte, Marta Piñeiro Freire, Rosana Rego Rodríguez, Rosa Rodríguez Suarez

Centro de trabajo: CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE GALICIA

Localidad: SANTIAGO DE COMPOSTELA

Correo electrónico del primer firmante: antonio.perez.boo@sergas.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Entre los parámetros de control de calidad sobresale la esterilidad de los componentes, no solamente por resultar un reflejo de la calidad de los procesos de extracción y producción de los componentes sanguíneos, sino además por la posible trascendencia clínica de los gérmenes aislados. Sin embargo, aunque los estándares indican la proporción del muestreo, no son prolijos en los detalles del procedimiento ni en los resultados esperados.

OBJETIVO:

Describir y analizar el procedimiento y los resultados de los controles de esterilidad realizados para los concentrados de hematíes producidos en un Centro de Transfusión en los últimos cinco años, componentes para los que todavía no existen métodos comerciales de reducción de patógenos.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Aproximadamente 10 ml del 1% de la producción de los concentrados de hematíes, con antigüedad próxima a la caducidad, fueron cultivados durante 7 días en medios aeróbico BPA y anaeróbico BPN, empleando un armario de cultivos automático bioMérieux BacT/ALERT® 3D. Los cultivos positivos fueron enviados para su identificación al Servicio de Microbiología de nuestro hospital de referencia.

RESULTADOS:

Fueron cultivados 4726 concentrados de hematíes de los que 47 (0,99%) resultaron positivos según indica la tabla anexa. En Otros se encuentran reunidos microorganismos ambientales, saprofitos u oportunistas como *Micrococcus* spp, *Aerococcus viridans*, *Bacteroides ureolyticus*, *Bacillus* spp, *Streptococcus* spp). No se han aislado enterobacterias ni *S. aureus*.

Microorganismo aislado*	CORY	PROPI	SCN	OTROS
Número de unidades	22	11	9	5
Procedentes de varones	77%	55%	60%	60%
Sólo medio anaeróbico	77%	100%	40%	50%
Días para cultivo positivo	3,3	3,9	1,0	2,6

(*) *Corynebacterium* spp, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus coagulans* negativo

CONCLUSIONES:

1. Los resultados se consideran satisfactorios, especialmente procediendo de inóculos de volumen alto y medios de cultivo aeróbico y anaeróbico estándar.
2. El empleo de medio anaeróbico detecta principalmente microorganismos de crecimiento lento, que son más frecuentes en varones, y representa el 75% de los aislados positivos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 178

EVALUACIÓN DE LOS NUEVOS CRITERIOS DE REVISIÓN DE FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA

Autor/a/s: Cristina Juan Lizana, Yolanda Díaz Martínez, Nuria López Galindo, Vanessa Barragán López, Ines Rodríguez-Hernández, Fuent Santa Millá y Evarist Feliu.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Germans Trias y Pujol Localidad: Badalona

Correo electrónico del primer firmante: priminessie2222@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La Sociedad Internacional de laboratorio de Hematología (ISLH) ha sugerido una serie de acciones a realizar tras el análisis automatizado de los recuentos celulares en sangre total y el recuento diferencial, entre los que se encuentra la revisión del frotis de sangre periférica.

Con esta referencia cada laboratorio debe configurar sus propios criterios para la revisión manual del frotis, para optimizar la carga de trabajo según su capacidad sin afectar la atención al paciente. Con el objetivo de mejorar la eficiencia en la sección de hematimetría, en enero de 2015 se optimizaron estos criterios en nuestro laboratorio.

OBJETIVOS:

Evaluar de forma retrospectiva el valor predictivo positivo de los criterios de revisión del frotis en nuestro centro, previos a octubre de 2014, y compararlos a los nuevos criterios, posteriores a 2014. Evaluar de forma prospectiva los nuevos criterios para valorar su eficiencia.

MATERIAL Y MÉTODOS:

- Se recogieron 40 muestras con frotis revisado realizadas según los criterios previos (10 procedentes de primaria, 10 de pacientes hospitalizados, 10 de consultas externas y 10 de hematología, para englobar diferentes patologías y todo el espectro analítico). Para su comparación, se recogieron 40 muestras con frotis realizados según los nuevos criterios con las mismas procedencias. Se consideró la positividad y la negatividad del frotis sanguíneo según la propuesta actual del ISLH. Para el análisis de eficiencia se recogieron 40 muestras de forma prospectivas con las mismas procedencias y se realizó frotis en todos los casos para comprobar los falsos y verdaderos negativos

- Para los recuentos celulares totales y el diferencial leucocitario se utilizó el analizador hematológico Unicel DxH 800 (Beckman Coulter) y para los cálculos estadísticos se utilizó el test de eficiencia para pruebas cualitativas del programa R-Comander.

RESULTADOS:

El valor predictivo positivo (probabilidad de que una muestra con criterios de realización de frotis de positivo según los criterios de consenso de ISLH) de los nuevos criterios fue del 51,1%, frente al 40,4% de los criterios previos. En el análisis prospectivo de 40 muestras, se obtuvo una sensibilidad del 25% (IC 95% 6-80%), una especificidad del 67% (49-81%), y una eficiencia del 62,5% (46-77%).

CONCLUSIONES:

Los nuevos criterios adoptados por el laboratorio tuvieron un valor predictivo positivo superior a los criterios previos, por lo tanto una mayor eficiencia.

Los nuevos criterios presentan una eficiencia y una especificidad aceptables, pero una sensibilidad mejorable.

Estos resultados deberían ser ampliados con estudios que incluyan un número más elevado de muestras, y así poder ser utilizados para modificar los propios criterios del centro.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 180

ANTICOAGULANTE LÚPICO: CASUÍSTICA EN 'LES TERRES DE L'EBRE'

Autor/a/s: MOYA COMÍ, M^aJOSÉ; HIERRO JUAN, MONTSE; MONLLAÓ HERNANDEZ, LAURA; BONFILL PAEZ, SONIA; SAURA ROÉ, MÒNICA; LOZANO MARÍN, SANDRA; SANS MATEU, TERESA; CENTELLES SERRANO, M^aJOSÉ; BAUBÍ ROVIRA, ROSA.

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los Anticuerpos antifosfolípidos (AcAF) pertenecen a la familia de las inmunoglobulinas, que incluyen entre otros, el Anticoagulante lúpico (AL) y los anticuerpos anticardiolipinas.

El AL es un anticuerpo que reacciona con los fosfolípidos de carga negativa y que provoca interferencias en las pruebas de coagulación que dependen de fosfolípidos. Cuando el AL es positivo y se asocia a trombosis arterial y/o venosa, abortos de repetición y/o trombopenia hablamos de síndrome antifosfolipídico

El AL se suele encontrar también en individuos que presentan Lupus Eritematoso y en enfermedades autoinmunes; también puede aparecer en respuesta a procesos infecciosos, neoplásicos o a fármacos.

OBJETIVOS:

Realizar un estudio descriptivo retrospectivo del número de determinaciones de AL realizadas en la población de les Terres de l'Ebre durante el año 2014 en el Hospital de Tortosa Verge de la Cinta (HTVC). Determinar el número de pruebas positivas y negativas, los diagnósticos más comunes y la clasificación por sexos y edades.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Las determinaciones se han realizado con el coagulómetro ACLTOP CTS 500. Para realizar la técnica, se utiliza plasma citratado pobre en plaquetas y los reactivos siguientes: TVVRD Screen (reactivo pobre en fosfolípidos para realizar el cribado de AL), el TVVRD Confirm (reactivo rico en fosfolípidos para la confirmación), Silica Clotting Time Screen (SCT), que contiene sílica coloidal, y el Silica Clotting Time Confirm (contiene sílica coloidal y fosfolípidos sintéticos).

La metodología para detectar el AL se basa en la capacidad que este posee de alargar los tiempos de coagulación en técnicas fosfolípido-dependientes (TPA, TVVRD y SCT) que no se corrigen con un aporte de plasma normal, pero sí, con un aporte de un suero/reactivo con fosfolípidos que neutraliza los anticuerpos. Se considera AL positivo cuando una de las dos técnicas o las dos acortan en las pruebas de coagulación ricas en fosfolípidos

Para realizar el estudio, se ha utilizado la base de datos de sistema informático EYRA del HTVC.

RESULTADOS:

De las 244 pruebas realizadas en el HTVC durante un año, 66 (27,05%) son positivas, 167 (68,44%) negativas. Las pruebas restantes, que son 11 (4,51%), son incidencias (sangres coaguladas, muestras insuficientes, interacción con otros fármacos, etc.) de las pruebas. La distribución por sexos es la siguiente: hombres, 96 (39,34%) y mujeres, 148 (60,66%). También hemos clasificado las determinaciones por edades: 0-16 años, 8 (3,28%); 17-25 a., 19 (7,79%); 26-35 a., 46 (18,85%); 36-45 a., 44 (18,03%); 46-55 a., 41 (16,80%); 56-65 a., 36 (14,75%); 66-75 a., 23 (9,43%), y >75 a., 27 (11,07%). Para terminar, se han clasificado las pruebas positivas según el diagnóstico del paciente en 7 grupos: Infertilidad y ginecología, 5 casos (7,58%); trombofilias (AVC, ICTUS &), 18 (27,27%); trombopenia, 5 (7,58%); lupus eritematoso sistémico y enfermedades autoinmunes, 6 (9,09%); síndrome antifosfolipídico, 4 (6,06%); pruebas de coagulación alteradas sin clínica, 8 (12,12%), y otros, 20 (30,30%).

De los 66 casos positivos, en 27 (40,91%) son positivas las dos técnicas.

CONCLUSIONES:

EL AL es una prueba asociada a enfermedades tromboticas, abortos de repetición o es un hallazgo casual de las pruebas de coagulación. En el HTVC es más solicitada en mujeres (60,66%) que en varones; la patología más habitual es el estudio de trombofilia (27,27%), y pruebas de coagulación alteradas sin clínica (12,12%). De las muestras que resultaron positivas (27,05%) de los casos, en el 40,91% lo son por las dos técnicas.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 182

TINCIÓN DE PERLS SOBRE PREPARACIONES TEÑIDAS PREVIAMENTE CON MAY GRÜN WALD GIEMSA

Autor/a/s: Costan Medina Beatriz, Arenillas Rocha Leonor, Navarro Albaiges Rosa, Ferrer Del Alamo Ana, Florensa Brichs Lourdes

Centro de trabajo: HOSPITAL DEL MAR-IMIM

Localidad: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: bcostan@parcdesalutmar.cat

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El estudio de la hemosiderina mediante la tinción de Perls en las muestras de aspirado medular permite la valoración conjunta del hierro de depósito en los macrófagos y de los sideroblastos. Es una técnica imprescindible en la evaluación del síndrome anémico. Existen tres patrones diferentes de hierro medular: 1) Disminución o ausencia del hierro macrofágico junto a disminución del número de sideroblastos, característico de estados ferropénicos, 2) Hierro macrofágico normal o aumentado asociado a una mala incorporación del mismo a los eritroblastos, es decir, una disminución del número de sideroblastos. Esta situación es característica de anemias secundarias a neoplasias, linfomas, infecciones crónicas, y se ha denominado patrón de bloqueo del hierro. 3) Aumento del depósito férrico en los macrófagos y aumento del número de sideroblastos normales y/o patológicos, situación observada en estados anémicos con sobrecarga férrica.

Pese a la importancia de la tinción de Perls, en ocasiones, tras el estudio citológico con tinciones panópticas no disponemos de más extensiones de material en fresco para realizarla.

OBJETIVO:

Describir la tinción de Perls en preparaciones teñidas de médula ósea con May-Grünwald Giemsa previamente decoloradas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En primer lugar, se procede a la decoloración del May-Grünwald Giemsa y posteriormente se aplica la tinción de Perls.

- Decoloración de la extensión teñida con May-Grünwald Giemsa: incubar a 37°C una hora en Etanol diluido al 50% y una hora en Metanol.
- Tinción de Perls: fijar durante 30 minutos en vapores de formol y, posteriormente, incubar una hora a 37°C en una mezcla 1:1 de Ácido clorhídrico al 2% y Ferrocianuro potásico al 2%. Lavar y contrastar con Hematoxilina de Harris durante 30 minutos.

La liberación de iones férricos unidos a proteínas mediante el Ácido clorhídrico al reaccionar con el Ferrocianuro potásico, producen un precipitado azul verdoso de Ferrocianuro férrico. Estos gránulos se encuentran en el interior de las células macrofágicas y en los eritroblastos (sideroblastos).

RESULTADOS:

La aplicación de la tinción de Perls tras la decoloración de May-Grünwald Giemsa ha permitido realizar el estudio del patrón de hierro medular con una calidad óptima, similar a la obtenida con la tinción directa.

CONCLUSIONES:

Esta técnica es sencilla y útil en todos los laboratorios, especialmente en los laboratorios de citología que se dedican al diagnóstico hematológico, ya que permite en casos en que no se dispone de material suficiente, realizar el estudio morfológico y la tinción de Perls en una única preparación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 186

VALORACIÓN DE LAS DISMORFIAS SANGUÍNEAS PROVOCADAS POR EL ANTICOAGULANTE EDTA. INTERÉS EN EL DIAGNÓSTICO HEMATOLÓGICO

Autor/a/s: Costan Medina Beatriz, Arenillas Rocha Leonor, Bragulat Sole Montserrat, Acemel Ballesteros Daniel, Florensa Brichs Lourdes

Centro de trabajo: HOSPITAL DEL MAR-IMIM

Localidad: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: bcostan@parcdesalutmar.cat

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El análisis en sangre periférica es de gran utilidad en numerosas enfermedades tanto hematológicas como no hematológicas. El estudio cuantitativo se realiza con un analizador hematológico y el cualitativo se basa en las características morfológicas de las células. El examen morfológico se debe realizar en muestras en fresco sin contacto con anticoagulantes y teñidas con tinción panóptica. Sin embargo en la práctica diaria no siempre es posible, siendo el EDTA el anticoagulante de elección para el estudio morfológico siempre que se efectúe dentro de un período de tiempo determinado.

OBJETIVO:

Valorar la estabilidad de las células sanguíneas para el estudio cuantitativo y cualitativo en sangre periférica con EDTA como anticoagulante.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realiza una punción venosa a un donante sano y se utiliza como anticoagulante EDTA K3 (Vacuette ref.454223). El estudio cuantitativo se efectúa con un analizador Coulter Beckman Act diff y el estudio cualitativo en frotis sanguíneo mediante tinción May-Grünwald Giemsa. Se realizan seis revisiones morfológicas: una en el momento de la extracción, cuatro en intervalos de dos horas y por último se realiza un estudio cuantitativo y cualitativo a las 24 horas con la muestra conservada a temperatura ambiente.

RESULTADOS:

En los hemogramas comparados de sangre recién extraída y a las 24 horas, destaca un incremento de células mononucleadas, disminución de los granulocitos y un aumento del volumen plaquetar medio. Las alteraciones morfológicas observadas en los distintos intervalos son:

1) Entre el primer y segundo (a las dos horas) apenas se observan diferencias:

Serie roja: anisocitosis. Serie leucocitaria: sin alteraciones. Plaquetas: sin alteraciones.

2) A partir de las cuatro horas el estudio morfológico empieza a cambiar:

Serie roja: perfil irregular de los hematíes. Serie leucocitaria: algún linfocito con prolongaciones. Plaquetas: ligero aumento de tamaño.

3) A las seis horas las alteraciones detectadas son más remarcables: Serie roja: Anisocitosis con algún hematíe espiculado. Serie leucocitaria: algún linfocito con prolongaciones. Plaquetas: plaquetas con ligero aumento de tamaño. Alguna célula en apoptosis.

4) A las ocho horas de la extracción se observa dismorfias en:

Serie roja: anisocitosis con algún esquistocito. Serie leucocitaria: neutrófilos y monocitos con vacuolas, algún linfocito con forma irregular. Plaquetas: aumento de tamaño con macrotrombocitos.

Presencia de células en apoptosis en cifras superiores a las observadas en las seis horas.

5) Tras 24 horas se observa dismorfias en:

Serie roja: hematíes espiculados y esquistocitos. Serie leucocitaria: neutrófilos y monocitos con vacuolas, linfocitos con forma irregular y prolongaciones. Plaquetas: macrotrombocitos. Presencia de abundantes células en apoptosis.

CONCLUSIONES

El estudio morfológico es importante realizarlo en las primeras cuatro horas de la sangre con EDTA, a partir de este momento la morfología de las tres series mieloides y de los linfocitos está alterada y es poco valorable. En las hemopatías en las que las alteraciones morfológicas constituyen un dato esencial para el diagnóstico, es imprescindible descartar que éstas no sean inducidas por el anticoagulante. Una morfología alterada por artefactos producidos por mala conservación de la muestra puede inducir a un diagnóstico erróneo.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 198

LA IMPORTANCIA DEL FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA EN EL LABORATORIO DE URGENCIAS

Autor/a/s: Panadero Tapia, Nuria; Jiménez Maroto, Paloma; Coronado Colorado, Jonathan; Barrio Delgado, María del Carmen; Llorente Ujado, Álvaro

Centro de trabajo: Hospital U. Puerta de Hierro Majadahonda

Localidad: Majadahonda

Correo electrónico del primer firmante: nurpana@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El laboratorio de urgencias tiene como finalidad generar resultados en el menor tiempo posible, con la calidad requerida por los diferentes médicos que lo solicitan y para los pacientes.

El hemograma es una técnica diagnóstica barata y una ventana abierta al interior del enfermo en la salud y la enfermedad.

La mayoría de las decisiones para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de las enfermedades, se realizan en base a los resultados de hemograma y en numerosas ocasiones con la revisión del frotis sanguíneo.

A veces el frotis de sangre periférica logra un diagnóstico definitivo, aunque más a menudo, éste es una herramienta importante en proporcionar pistas diagnósticas que orientan hacia la solicitud de

nuevos estudios.

OBJETIVO:

Evaluación del frotis de sangre periférica como complemento diagnóstico del hemograma.

METODOLOGÍA:

Se necesita sangre periférica anticoagulada con EDTA, que primero procesamos en los autoanalizadores sysmex XE-2100, XT- 2000 i (Roche Diagnostic), dependiendo del recuento automático que nos de, procederemos o no a hacer el frotis.

Para la realización de la extensión utilizamos dispensadores de sangre (DIFF-SAFE) que nos evitan la manipulación de la muestra, portaobjetos (LINEA LAB) y teñidor HEMATEK (SIEMENS).

Una vez teñido lo visualizamos en el microscopio óptico (NIKON ECLIPSE E 400), poniendo aceite de inmersión y un cubreobjetos.

El conteo de la fórmula leucocitaria, revisión de plaquetas y visualización de hematíes, se realiza con el objetivo de 40X, para hacer la fórmula nos ayudamos de un contador digital

(HYUNIL LAB MATE), se debe leer haciendo un recorrido en forma de greca, donde los hematíes no estén muy juntos ni muy separados (zonas blancas donde no hay hematíes) y contaremos 100 células.

El recuento de plaquetas se realiza con el objetivo de 100X con aceite de inmersión.

CRITERIOS PARA REALIZACIÓN DE FROTIS.

Es importante a la hora de realizar un frotis saber diferenciar entre un paciente de urgencias y uno ingresado. Debemos tener en cuenta siempre si tienen resultados anteriores; si son similares no haría falta hacer el frotis, a no ser que lo pida expresamente el facultativo, indicándonos que es lo que sospechan o el diagnóstico que tiene.

Si tuviera valores anormales diferentes de los resultados previos, haríamos el frotis.

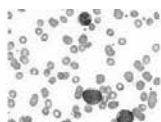
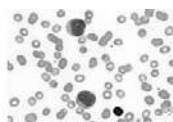
Cuando vemos un resultado anormal en pacientes que vienen a urgencias y no tienen resultados previos, se le hace un frotis, teniendo en cuenta los siguientes criterios:

- Leucocitosis o leucopenia: Observaríamos la morfología celular.
- Neutropenia, neutrofilia: Miraríamos si hay cayados, mielocitos, metamielocitos, hipersegmentación, vacuolas, coloración tóxica.
- Linfocitosis: Observaríamos si hay linfocitos activados, linfocitos atípicos, células linfoplasmáticas.
- Monocitosis
- Trombopenia: Tenemos que fijarnos si hay agregados plaquetarios, el tamaño de las plaquetas, si hay esquistocitos.
- Alarmas y distribución anormal en las gráficas: Blastos, eritroblastos

Si al revisar la extensión vemos anomalías en los hematíes (anisocitosis, poiquilocitosis), en este caso el hematólogo de guardia se haría cargo de informar y validar el frotis.

CASO CLÍNICO:

Paciente de 63 años que llega a urgencias, al realizar el hemograma vemos unos leucocitos no muy elevados 17×10^3 , 59% de linfocitos, plaquetas bajas y Hb de 8, alarmas de blastos, realizamos el frotis, encontramos un % bastante elevado de blastos



CONCLUSIÓN:

La realización del frotis sanguíneo es de gran importancia para el

diagnóstico de muchas patologías, sobre todo en hematología, ya que el diagnóstico de muchas enfermedades hematológicas (leucemias, deficiencias de hierro, trastornos genéticos de la forma de los eritrocitos,,,) puede realizarse con solo observar las características morfológicas de las células sanguíneas.

Por lo tanto la precisión de la evaluación morfológica depende en gran parte de una correcta realización del frotis, un buen extendido, su correcta tinción, un personal entrenado y experimentado, todo esto, es fundamental a la hora de la observación al microscopio, ya que se puede obtener mucha información a partir de éste, poniendo de sobre aviso a los médicos para así poder actuar con rapidez, seguridad y con la calidad necesaria para un buen diagnóstico.

INMUNOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 011

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS LUMINEX Y SECUENCIACIÓN SANGER PARA LA BÚSQUEDA DE COMPATIBILIDAD EN DONANTES DE MÉDULA ÓSEA.

Autor/a/s: Moreno Casares, Antonia María; Delgado Salazar, Inmaculada; Sánchez Bolívar, Noelia; Gil Valencia, Josefa; Amezcua Molero, Carmen; Martínez Chamorro, Alba.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: tmcgranada@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los Antígenos Leucocitarios Humanos - HLA son moléculas que se encuentran en los glóbulos blancos (o leucocitos) de la sangre y en la superficie de casi todas las células de los tejidos de un individuo. Cumplen con la función de reconocer lo propio y lo ajeno y aseguran la respuesta inmune, capaz de defender al organismo de algunos agentes extraños que generan infecciones.

Ese conjunto de moléculas y las formas en que son transmitidas de padres a hijos constituyen un Sistema también denominado de Histocompatibilidad (de histo = tejido) o de la Individualidad (lo propio y lo ajeno). Su descubrimiento ha permitido a la medicina dar un salto cualitativo en las posibilidades de éxito de un trasplante.

Con el fin de obtener el tipaje HLA, en el laboratorio se dispone de técnicas genómicas centradas en el análisis molecular de DNA. Nos centraremos en la técnica de fluorometría Luminex y la Secuenciación Sanger.

OBJETIVOS:

El objetivo de este trabajo es estudiar ambas técnicas para optimizar el tiempo, trabajo y recursos de nuestro laboratorio, a la vez de dar resultados 100% fiables para los trasplantes de Médula Ósea.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio comparativo lo haremos estudiando las mismas muestras con ambas técnicas. Usando 10 familias completas (madre, padre, receptor de médula ósea y hermano sano compatible con el receptor). Nos vamos a centrar primero en la tecnología Luminex (técnica genómica que emplea la tecnología de secuencias de oligonucleótidos específicas. La técnica del SSO (sequence specific-oligonucleotide) consiste en una reacción de hibridación del producto de DNA amplificado mediante PCR que nos interesa tipar, con sondas de oligonucleótidos de secuencia específica para las variantes alélicas de los diferentes genes HLA (A, B, C, DR, DQ, &). Estas sondas quedan inmovilizadas en microesferas, entre otras posibilidades.

En segundo lugar hablaremos de la Secuenciación Sanger. Se realizan PCRs con iniciadores genéricos que amplifican a todos los alelos de un gen, posteriormente los productos de PCR se secuencian y los resultados de la secuencia se comparan con bases de datos de todos los alelos conocidos para discernir de que alelos se trata.

RESULTADOS:

Como cabía esperar, los resultados del tipaje HLA con ambas técnicas son los mismos, así que hablamos de técnicas muy fiables para este tipo de estudio.

CONCLUSIONES:

Los estudios realizados nos muestran que el Luminex es un analizador flexible basado en los principios de citometría de flujo y puede medir simultáneamente hasta 100 analitos. Esta técnica permite realizar un número mayor de determinaciones en un corto periodo de tiempo.

Respecto a la Secuenciación Sanger hay que destacar que está considerada como el estándar de oro. Se tarda más tiempo, pero es muy útil y fiable cuando se ha elegido a un donador no emparentado para verificar la compatibilidad entre él y el receptor.

La conclusión es que ambas técnicas son muy fiables para la búsqueda de donantes (emparentados o no) en trasplantes de Médula Ósea, pero la tecnología Luminex permite trabajar con un número mayor de muestras y en menor tiempo.

En este tipo de estudios el tiempo es un factor a tener en cuenta por la necesidad y la urgencia de los pacientes para ser trasplantados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 012

CREACIÓN DE UNA "GUÍA O PROTOCOLO DE ACTUACIÓN EN UNA ALARMA DE TRASPLANTE RENAL" EN EL LABORATORIO DE HLA GENÓMICO Y SEROLÓGICO

Autor/a/s: Moreno Casares, Antonia María; Amezcua Molero, Carmen; Sánchez Bolívar, Noelia; Gil Valencia, Josefa; Delgado Salazar, Inmaculada; Martínez Chamorro, Alba.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: tmcgranada@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Cada año se incorpora al Laboratorio de HLA Genómico y Serológico un biólogo o médico para su periodo de residencia y formación como futuros inmunólogos. A parte de las diferentes rotaciones de los mismos por las diferentes áreas del laboratorio, una de sus funciones más destacadas es la participación en las alarmas de trasplante de riñón. Estos residentes trabajan mano a mano con técnicos de laboratorio y médicos.

El encargado de enseñar los pasos a seguir en las alarmas de trasplante a los nuevos residentes es el técnico. Tras varios años, los técnicos sugirieron a sus superiores la elaboración de un documento que sirviera de guía a cada persona implicada en esta tarea, lo que facilitaría el trabajo y haría más eficaz y rápido el aprendizaje del protocolo a seguir.

OBJETIVOS:

Elaborar un protocolo de actuación en caso de alarma de trasplante de riñón.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Una vez estudiada la propuesta de elaborar una guía con los facultativos, técnicos y residentes implicados procedemos a reunir todos los protocolos normalizados de trabajo (PNT) de cada técnica, teléfonos de interés de los nefrólogos de guardia, hematólogos, etc.

RESULTADOS:

Se redacta una guía con las siguientes características:

1ª Fase: Tipaje del donante y selección de los posibles receptores.

2ª Fase: Pruebas cruzadas (cross match).

FASE 1:

El laboratorio recibe un aviso de la Coordinación Provincial de Trasplantes, que serán los encargados de enviar las muestras de sangre y bazo para su estudio.

Una vez recibidas las muestras se abrirá una carpeta con la identificación y datos del donante (grupo sanguíneo, tipaje serológico de clase I y II, y tipaje genómico si el anterior no hubiera sido concluyente).

Cuando se tengan todos los datos del donante, se introducirán en un programa informático para que se emita la lista de posibles receptores teniendo en cuenta la compatibilidad HLA.

FASE 2:

Después de seleccionar los posibles receptores, se pasará a realizar las pruebas cruzadas.

Estas pruebas se realizan justo antes de un trasplante renal para evitar la aparición de rechazo agudo o hiperagudo, debido a la presencia de Ag preformados anti-HLA-I y anti-HLA-II frente a las células del donante.

Para ello enfrentamos células del donante (linfocitos) con sueros del posible receptor. La técnica usada es la Citotoxicidad dirigida por complemento, quedando como técnica alternativa la Citometría de flujo que será usada a criterio facultativo.

Se obtienen células T (Clase I) y B (Clase II) a partir de una muestra de bazo o de ganglio que se aislarán mediante bolitas magnéticas.

En las placas de Terasaki se ponen controles positivo y negativo, y las células del donante y sueros del receptor, para ver la reactividad entre ambas.

Si pasado un tiempo de incubación necesario para la técnica, no hay reactividad, el crossmatch se dará como negativo y tendrá prioridad para el trasplante respecto a los que den positivo.

Una vez acabadas todas las pruebas (tipaje genómico, tipaje serológico, grupo sanguíneo, cross match, etc.) se avisará inmediatamente al Servicio de Nefrología, y a continuación se les entregará un resumen por escrito de todas las pruebas y sus resultados correspondientes.

CONCLUSIONES:

Gracias al documento elaborado entre todos los implicados en las alarmas de trasplante renal, cada año es más fácil formar a los nuevos residentes y a los nuevos técnicos que empiezan a trabajar en este área.

La coordinación entre los trabajadores del laboratorio y el servicio de nefrología es mucho mejor a la hora de organizar los trasplantes y escoger a los receptores de cada riñón.

La guía se revisa cada año para actualizar las nuevas técnicas que se emplean, los teléfonos del personal implicado, etc.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 013

HLA DQ2 Y DQ8. PROS Y CONTRAS DE TIPAJE HLA MEDIANTE SSO (SECUENCIAS DE OLIGONUCLEÓTIDOS ESPECÍFICAS) INMOVILIZADAS SOBRE MICROESFERAS MAGNÉTICAS Y REAL TIME-PCR.

Autor/a/s: Moreno Casares, Antonia María; Gil Valencia, Josefa; Sánchez Bolívar, Noelia; Amezcua Molero, Carmen; Delgado Salazar, Inmaculada; Martínez Chamorro, ALba.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de las Nieves

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: tmcgranada@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

La celiaquía es una enfermedad que produce inflamación en el intestino delgado y daño a su revestimiento. Esto impide la absorción de componentes importantes de los alimentos. El daño a la mucosa del intestino proviene de una reacción a la ingestión de gluten, que se encuentra en el trigo, la cebada, el centeno, y posiblemente la avena, y en alimentos elaborados con estos ingredientes. Para obtener el Tipaje HLA en el Laboratorio de Especialidades de Granada usamos dos técnicas diferentes.

El objetivo de este estudio es valorar qué tecnología es la más adecuada para su instauración en el laboratorio definitivamente.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Partimos de 200 muestras de las cuales 100 son pacientes diagnosticados de celiaquía y los otros 100 son controles sanos. Se realiza el tipaje HLA mediante las dos técnicas que queremos comparar.

- Tecnología Luminex (One-Lambda, Rafer): el producto de PCR biotinizado en 5' hibridará con su sonda específica. La intensidad de la señal se revela gracias a otro producto de la reacción, la estreptavidina marcada con fluorocromos, que se unirá a la biotina en 5' de nuestra muestra de PCR. La interpretación de resultados nos la ofrece un programa informático especializado en este tipo de análisis.

- RT-PCR (GENVINSET, Diagnostica LongWood): el método empleado se basa en tres reacciones de amplificación PCR con primers específicos para los alelos HLA DQB1*02, DQB1*03:02 y DQA*05 monitorizado con sondas TaqMan. La detección de los alelos que suponen un factor de predisposición a la enfermedad celíaca permite la determinación de los antígenos.

RESULTADOS:

De las 100 muestras de pacientes diagnosticados como celíacos con ambas técnicas, el mayor porcentaje de los mismos poseen el alelo DQB1*08. Y en menor medida el DQB1*02.

CONCLUSIONES:

Desde el punto de vista técnico, ambas técnicas en relación a la fiabilidad son buenas para ayudar al diagnóstico de la enfermedad.

Uno de los pros de ambas técnicas es que se puede trabajar con gran cantidad de muestras. Podemos completar una placa completa a excepción del control positivo, control negativo y blanco que se usa para dar fiabilidad a cada kit y reacción de PCR.

En las contras podemos destacar que la tecnología Luminex precisa de multitud de pipeteos, usos en más de una ocasión de termociclador y el análisis tedioso con el software específico del que hay que tener un buen conocimiento para no retrasar más de lo previsto la entrega de resultados.

A favor de la RT-PCR está su facilidad a la hora del análisis ya que es muy visual y rápido.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 025

UNA NUEVA MUTACION EN PACIENTE CON ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA AUTOSÓMICA RECESIVA POR DEFECTO EN NCF2 (P67-PHOX)

Autor/a/s: Bernal de la Rosa Carmen, Fernández-Carrión Pérez María del Carmen, Varga Cubillo Begoña, Pascual Campo María del Carmen, Bravo García-Morato María, López Lera Alberto, Ferreira Cerdán Antonio.

Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: carmen_berosa@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La Enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC) es una inmunodeficiencia primaria englobada en la clasificación dentro de los defectos del número de fagocitos, su función o ambos y que es debida a mutaciones de los genes que codifican para la NADPH oxidasa de los fagocitos, que comprenden un gen ligado al cromosoma X (CYBB, gp91phox) y cuatro genes autosómicos recesivos [CYBA(p22phox), NCF1(p47phox), NCF2(p67phox) y NCF4(p40phox)]. Estos defectos ocasionan una ausencia de generación de anión superóxido y por tanto un defecto en la generación de radicales oxidantes y carencia de muerte de organismos intracelulares. Clínicamente se caracteriza por infecciones recurrentes bacterianas y fúngicas que suelen comenzar el primer año de vida y que comprometen la vida del paciente.

Describimos el diagnóstico molecular de una paciente, sin antecedentes de consanguinidad aunque los padres son del mismo municipio, con infecciones recurrentes desde el primer año de vida, fístula anal con absceso y diagnóstico de enfermedad de Crohn sugestivas de EGC, se realiza determinación de generación de anión superóxido en paciente y padres siendo patológica en los pacientes y normal en los padres por lo que se diagnostica de EGC autonómica recesiva.

El objetivo es determinar por una parte qué proteína es la responsable de la enfermedad y por otra realizar el diagnóstico molecular con el fin de dar consejo genético.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Para el diagnóstico se determinó la actividad respiratoria de los neutrófilos mediante citometría de flujo (oxidación de 123 dihidrorrodamina), espectrofotometría mediante reducción del ferricitocromo C. Posteriormente se cuantificaron las proteínas responsables de la enfermedad mediante citometría de flujo utilizando anticuerpo monoclonal 7D5 frente al complejo gp91phox-p22phox y los policlonales frente a p47 y p67.

Se caracterizaron las mutaciones en el gen NCF2(p67phox) en el cromosoma 1 mediante la amplificación y secuenciación de los 15 exones y sus regiones intrónicas adyacentes.

RESULTADOS:

Los neutrófilos de la paciente carecían de generación de anión superóxido mediante citometría de flujo y espectrofotometría, lo que permitió el diagnóstico de EGC. Posteriormente se cuantificaron las proteínas responsables mediante citometría de flujo, presentando cantidades normales del complejo gp91phox-p22phox y p47phox, siendo discretamente disminuida la presencia de p67phox en la paciente.

El estudio molecular detectó en la paciente una delección en el exón 13 del gen NCF2(p67phox) en homocigosis:

g.28381_28384delCACA, c.1284_1287delCACA, p.Asn428fsX55

Ambos padres son portadores de la delección en heterocigosis

CONCLUSIÓN:

Se ha diagnosticado una paciente de Enfermedad Granulomatosa Crónica Autosómica Recesiva por una mutación en homocigosis no descrita previamente en el exón 13 del gen NCF2 que codifica para la subunidad p67-phox. La mutación, es una delección de 4 pares de bases que da lugar a un polipéptido que tiene 38 aminoácidos menos

que la proteína no mutada. Esta mutación permite que la proteína generada se exprese en la membrana de los granulocitos pero le impide desempeñar su función biológica.

Su conocimiento ha permitido dar consejo genético a los padres, portadores de la mutación.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 053

VIRUS DEL DENGUE

Autor/a/s: Cruz López, Josefa. Duque Cortés, Elisabet. Salamanca Cuadrado, M^a Encarnación. López Ladevèze, M^a Jesús. Vendrell Rus, Sylvia.

Centro de trabajo: Laboratori Clinic ICS Camp de Tarragona i Terres de l'Ebre

Localidad: TARRAGONA

Correo electrónico del primer firmante: pepislab@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Enfermedad vírica transmitida por el mosquito. Aedes aegypti

Descrita por primera vez en los años 50 en una epidemia en Filipinas y Tailandia, hay aproximadamente 50 millones de infecciones al año.

Es una de las arbovirosis más importantes, tanto desde el punto de vista médico como de salud pública.

La población de riesgo se encuentra en Asia sud-oriental y en la región occidental del Pacífico. No es endémica en Europa.

Podemos clasificar el virus en 4 grupos: DEN1, DEN2, DEN3, DEN4.

OBJETIVO:

Crear un plan estratégico dirigido a ayudar a los países a revertir el crecimiento de la infección. Mediante una vigilancia del virus del dengue, observando el vector, controlando los afectados, la respuesta delante de los brotes y comunicando los casos a Sanidad.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En la actualidad las pruebas de laboratorio para detectar el virus del Dengue son:

Aislamiento del virus para cultivo celular

Determinación del RNA viral permitiéndonos su cuantificación por PCR

Determinación del antígeno NS1 y los niveles de IgG e IgM mediante ELISA

RESULTADOS:

Para confirmar que realmente estamos ante un caso de infección de Virus del Dengue, es necesario como mínimo:

PCR positiva, seroconversión de IGM en sueros emparejados, seroconversión de IgG en sueros emparejados o un aumento x4 del título de IgG, determinación Ag NS1.

Una relación de IgM/IgG >1.2 nos indica infección primaria y <1,2 infección secundaria

Cultivo celular positivo.

CONCLUSIÓN:

El mayor riesgo se encuentra en personas que residen en zonas endémicas.

Sin embargo hay que destacar la importancia de los programas de control del vector y de prevención si se viaja a dichos países.

PREVALENCIA DE HLA-B27 EN PACIENTE CON SINTOMATOLOGÍA REUMÁTICA

Autor/a/s: CIVICOS MARTIN, ANA MARIA; REDONDO CHOZAS, MARIA DOLORES; CORTES EGEDA; PATRICIA

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO LA MANCHA CENTRO

Localidad: ALCAZAR DE SAN JUAN

Correo electrónico del primer firmante: ANA_CIVICOS@HOTMAIL.COM

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El antígeno HLA-B27 o antígeno leucocitario humano es una proteína específica que se encuentra en la superficie de los glóbulos blancos. Se utiliza principalmente para confirmar la sospecha de un diagnóstico de espondilitis anquilopoyética (EA), artritis reactiva o uveítis.

La EA y la artritis reactiva son enfermedades crónicas y progresivas que resultan más prevalentes en hombres que en mujeres, soliendo aparecer en la tercera década de la vida.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es investigar la prevalencia de positividad de HLA-B27 en pacientes que presentan patología reumática según sexo.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se evaluaron 100 pacientes (46 varones y 54 mujeres) con edades comprendidas entre 17 y 78 años, con sintomatología reumática que acudieron a consultas externas de la área del Complejo Hospitalario la Mancha Centro en un periodo de seis meses comprendido entre febrero y julio de 2014.

Se analiza la presencia del antígeno HLA-B27 en muestras de sangre venosa con anticoagulante EDTA mediante citometría de flujo en el equipo EPICS XL-MCL (Beckman Coulter®).

El método empleado es inmunofenotipado por citometría de flujo..

RESULTADOS:

El estudio de HLA-B27 resultó positivos en 13 casos y negativo en 87. En varones obtuvimos 3 casos positivos y 43 negativos, mientras que en mujeres hubo 10 positivos y 44 negativos.

Tras completar el estudio se determinó que en varones de los 3 casos positivos (6.5%), dos fueron enfermedades reumáticas y una uveítis. De los 43 negativos, 40 fueron enfermedades reumáticas y 3 uveítis. En mujeres de los 10 casos positivos (18.5%), 7 fueron enfermedades reumáticas y 3 uveítis. De los 44 negativos, 43 fueron enfermedades reumáticas y 1 uveítis.

CONCLUSIONES:

El 13% de la población estudiada presenta HLA-B27 positivo, que junto con la sintomatología presentada por el paciente (dolor crónico, inflamación y los cambios óseos degenerativos), apoya la sospecha diagnóstica de EA, artritis reactiva y uveítis.

A la vista de los resultados podemos concluir que la presencia de HLA-B27 es prácticamente 3 veces mayor en mujeres que en hombres en nuestra población.

A pesar de que la bibliografía consultada indica que la prevalencia de HLA-B27 positivo es superior en hombres que en mujeres, nuestros resultados indican lo contrario, debido al sesgo empleado en nuestra población de estudio y la corta serie de casos estudiados.

ERRORES TÉCNICOS MÁS FRECUENTES EN LOS LABORATORIOS DE INMUNOLOGÍA DIAGNÓSTICA EN EL PROGRAMA DE CALIDAD GECLID-SEI

Autor/a/s: Martino Sanz Mario, Sánchez Márquez Esteban, García Hontoria Miguel Ángel, Martín Alonso M. Carmen, Corell Almuzara Alfredo

Centro de trabajo: InmunoLAB

Localidad: Valladolid

Correo electrónico del primer firmante: tecnico.inmunolab.parque.cientifico@uva.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Un control de calidad externo es esencial para la buena práctica de todos los laboratorios, ya sean de diagnóstico, calibración o inspección. Un control externo utiliza ejercicios de intercomparación para la evaluación el desempeño de los laboratorios.

EL programa GECLID-SEI (Programa de Garantía Externa de Calidad para Laboratorios de Inmunología Diagnóstica auspiciado por la Sociedad Española de inmunología) está ejecutando más de 35 esquemas analíticos de comparaciones entre laboratorios desde el año 2011. Oferta 4 subprogramas para los siguientes campos de diagnóstico: autoinmunidad, histocompatibilidad, inmunidad celular e inmunohistoquímica y alergia.

Las Normas ISO son un conjunto de normas sobre calidad, establecidas por la Organización Internacional de Normalización.

GECLID-SEI sigue la normativa internacional ISO (ISO9001:2008 Sistema de gestión de la calidad. Requisitos, ISO13528:2005 Métodos estadísticos para el empleo en pruebas de habilidad por comparaciones interlaboratorio, ISO15189:2013 Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia, ISO17043:2010 Evaluación de la conformidad. Requisitos generales para los ensayos de aptitud).

Para evaluar un control externo se utilizan una serie de herramientas, como las encuestas de satisfacción y las incidencias, que pretenden una mejora continua.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio fue encontrar las causas que provocan los errores técnicos en los laboratorios de diagnóstico de patologías del sistema inmunitario.

MATERIAL Y MÉTODOS:

En este estudio participaron un total de 231 laboratorios en los diferentes subprogramas.

Entre 2011-2014 se elaboraron 9129 informes (con el 96% de los informes de 2014 analizados), se realizaron 332 envíos y se realizaron 52779 alícuotas, en los cuales hubo 107 reclamaciones.

Una vez analizadas las reclamaciones se agruparon en 6 categorías, que fueron: error administrativo, errores de transcripción, errores de la herramienta de análisis, errores en el análisis de resultados, errores de la página web y errores o problemas con las muestras que se tenían que analizar.

RESULTADOS:

Las 107 reclamaciones puestas en 4 años, se distribuyeron de la siguiente manera: 2 reclamaciones por errores administrativo, 38 reclamaciones por errores de análisis, 26 reclamaciones por error de la herramienta de análisis, 6 reclamaciones por errores de la página Web, 31 reclamaciones por errores de transcripción y 3 reclamaciones por problemas con la muestra.

El 92.5% de las reclamaciones procedieron.

Analizando los errores por subprogramas se observó, que en el subprograma de inmunidad celular, histocompatibilidad e inmunológica y alergia el error más frecuente es el error de transcripción, teniendo aproximadamente un 40% de incidencia.

CONCLUSIONES:

La causa que se repite como mayoritaria en casi todos los subprogramas es el error de transcripción, que es una fuente postanalítica, por lo tanto, hay que buscar medidas preventivas para solucionar los problemas postanalíticos.

El papel del técnico de laboratorio juega un papel crucial a la hora de evitar estos errores, proponiendo y llevando a cabo acciones correctivas para subsanar este tipo de errores.

Resumen Comunicación Científica - ORAL PANEL

Número: 134

ANTICUERPOS ANTINUCLEOLARES Y SUS ESPECIFICIDADES ANTIGÉNICAS

Autor/a/s: María Asunción Julián Viñals, Carmen Salcedo Moreno, Francisca Yanez Pereira, María Jesús Marcos Gutierrez, Elena Marco Castro, Carmen Bernal de la Rosa, Rita Alvarez Doforno

Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz

Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: mariajulianv@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los anticuerpos antinucleolares (AANo) son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos que reconocen diferentes estructuras dentro del nucléolo de las células, compuesto de proteínas, ARN y ADN ribosomal. Los AANo están asociados con la esclerosis sistémica (ES) entre el 8-43% aunque se detectan con menos frecuencia en pacientes con otras enfermedades autoinmunes y en carcinomas, no siendo muy útiles para un primer diagnóstico de enfermedad. La asociación clínica con varios subtipos de AANo específicos sugieren que estos anticuerpos pueden ser potenciales marcadores diagnósticos, especialmente para subgrupos de pacientes con alto riesgo. Tradicionalmente se detectan por inmunofluorescencia indirecta (IFI) y su presencia se confirma por inmunoprecipitación, identificando los antígenos específicos, aunque esta técnica no suele estar al alcance de todos los laboratorios.

OBJETIVOS:

Debido a la complejidad de la técnica de inmunoprecipitación y la dificultad de emplearla de forma rutinaria en el laboratorio de autoinmunidad se tratará de hacer un algoritmo de trabajo con las técnicas disponibles para la identificación de AANo.

I- Clasificar los distintos patrones nucleolares por IFI.

II- Estudiar la especificidad de los AANo por técnicas de inmunoblot y ELISA InmunoCAP.

III- Determinar la frecuencia de las distintas especificidades antigénicas estudiadas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se seleccionaron 258 sueros de pacientes entre los años 2010 a 2014 en el laboratorio de autoinmunidad del Hospital Universitario La Paz con petición de anticuerpos anti nucleares (ANA) y que presentaban patrón nucleolar a títulos elevados ($> 1/1280$) por IFI.

-Para detectar los AANo se empleó la Inmunofluorescencia indirecta (IFI), los sueros se incuban sobre portas cuyo sustrato son células HEp-2 [EUROINMUN AG Luebeck (Germany)], después de lavados se incuban con un antisuero específico marcado con fluoresceína leyéndose posteriormente en el microscopio de fluorescencia.

Para el estudio de las especificidades se emplearon:

-Método automático ELISA InmunoCAP ThermoFisher Scientific 250. Phadia AB/, para la determinación de anticuerpos antifibrilarina y antiARNpolimerasa.

-Dot-blot comercial semiautomatizado [Sclero-Poly-Synthetase Profile 12 DOT(Alphadia)], para los antiScl-70, antiPMScl y antiKu

-Blot INNO-LIA ANA [Update (FUJIREBIO)], que detecta los anticuerpos anti-ribosomal-P, anti-Ro y anti-SSB

RESULTADOS:

I- Después de ensayar los sueros se observaron tres patrones nucleolares definidos como: a) Patrón homogéneo (NoH): Fluorescencia difusa de los nucléolos, sin tinción en el área de la cromatina en las células en metafase. Este patrón puede encontrarse asociado a otros patrones celulares, pudiendo ser mixto con nucleoplasma homogéneo (NPH), nucleoplasma moteado (NPM) o citoplasma denso (CD). b) Patrón grumoso clumpy (NoG): Gránulos grandes brillantes que corresponden a los centros fibrilares del nucléolo. En células mitóticas, la telofase y metafase aparecen por tener una fluorescencia irregular. c) Patrón moteado (NoM): Pequeños cuerpos intranucleolares brillantes, con 2-5 puntos en la cromatina.

II- Se identificaron 8 especificidades en los 258 pacientes: fibrilarina (FIBRI), ARN polimerasa (ARN-pol), PMScl, Scl70, Ro/SSB, Ku, ribosomal (rRNP), NOR90 pudiéndose asociar un patrón para cada especificidad.

III- La frecuencia de los anticuerpos fue:

Especificidad	Scl-70	PMScl	Ku	Ro/SSB	rRNP	FIBRI	NOR90	ARN-pol	FIBRI+ARN-pol
Patrón Nucleolar (No)	NoH mixto con NPM	NoH mixto con NPM	NoH mixto con NPM	NoH mixto con NPM	NoH mixto con CD	NoG Clumpy	NoM	NoM	NoM
Nº pacientes	41	6	12	33	8	20	2	21	2
frecuencia	15,89 %	2,32 %	4,65 %	12,79 %	3,10 %	7,75 %	0,77 %	8,14 %	0,77 %

CONCLUSIONES:

La interpretación de la IFI tiene cierta dificultad y se necesita personal experto. Es la primera técnica para el despistaje de los AANo. Se definen tres patrones nucleolares: homogéneo, moteado y grumoso que se pueden asociar a especificidades concretas las cuales se identificarán con la técnica apropiada.

En 145 pacientes (56,21 %), hemos identificado la especificidad de los anticuerpos con técnicas de alta sensibilidad y especificidad, lo que supone una herramienta importante para ayudar en el diagnóstico ante la sospecha de una enfermedad autoinmune.

Los anticuerpos que están relacionados con la esclerodermia en los pacientes seleccionados son en orden de prevalencia: Ac antiScl-70, anti ARN pol, anti fibrilarina, anti PMScl y anti NOR 90. Los Ac anti Ro/SSB, anti Ku y rRNP se asocian a pacientes con Síndrome de Sjögren y/o Lupus eritematoso sistémico.

Con las técnicas habituales utilizadas en el laboratorio no hemos podido identificar la especificidad en 113 pacientes (43,79%). Esto nos plantea la necesidad de incorporar nuevas técnicas para ampliar el estudio de los anticuerpos antinucleolares.

MICROBIOLOGÍA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 002

ENTEROPATÓGENOS AISLADOS EN LA GASTROENTERITIS INFECCIOSA EN EL ÁREA SANITARIA NORTE DE HUELVA.

Autor/a/s: GARCIA VELA, JOSE HERMINIO y FRANCO ALVAREZ DE LUNA, FRANCISCO

Centro de trabajo: HOSPITAL DE RIOTINTO (AGSNH)

Localidad: MINAS DE RIOTINTO

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

RESUMEN:

Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas que se producen con mayor frecuencia, sólo superadas por las infecciones del tracto respiratorio. En la mayoría de ocasiones se trata de un proceso infeccioso leve en los adultos sanos; pero sin embargo, un desequilibrio electrolítico puede producir una grave deshidratación en personas inmunodeprimidas, en niños y ancianos. Además se reconoce a nivel mundial que las infecciones gastrointestinales son una de las causas más importantes de morbi-mortalidad entre los lactantes y niños. El objetivo de este trabajo es el estudio de la prevalencia de enteropatógenos en el Área Sanitaria Norte de Huelva, durante los años 2003 a 2014.

INTRODUCCIÓN:

La gastroenteritis infecciosa es la disfunción y/o la inflamación intestinal provocada por un microorganismo (bacterias, virus, parásitos o protozoos) o sus toxinas (enterotoxinas, citotoxinas, neurotoxinas) que cursa con diarrea, acompañada o no de fiebre, vómitos y dolor abdominal. Representa una de las causas principales de morbilidad mundial y una de las primeras de mortalidad en los países en vías de desarrollo. Las gastroenteritis infecciosas se pueden clasificar, en función de su duración, en agudas (< 14 días), persistentes (>14 y < 30 días) y crónicas (> 30 días), y en función del mecanismo de producción, en toxoinfección alimentaria (causadas por enterotoxinas bacterianas), diarreas inflamatorias y no inflamatorias. En España, los agentes infecciosos que con mayor frecuencia provocan diarrea infecciosa son *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. y rotavirus. El principal objetivo del tratamiento es la reposición de líquido y electrolitos. Los pacientes gravemente deshidratados y los que tengan intolerancia oral serán tratados con soluciones intravenosas. Se considera que menos del 10% de los casos se beneficia del tratamiento antimicrobiano, cuya indicación depende de la gravedad de la infección, el organismo causal y el estado inmunológico del paciente. Entre los tipos de diarrea que deben tratarse con antibióticos se encuentra la shigelosis.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Durante el periodo de estudio (2003-2014) se procesaron un total de 7055 muestras de heces. Todas las muestras clínicas de heces se procesaron según los protocolos habituales de nuestro laboratorio. Las muestras fueron sembradas en los siguientes medios de cultivo: Agar Sangre, Agar MacConkey, Agar *Salmonella*-*Shigella* (SS), Agar *Yersinia*, Agar *Campylobacter*, y medio Selenito (de Biomérieux® y Soria-Melguizo®). A las colonias sospechosas y morfológicamente compatibles con alguno de los enteropatógenos objeto de este estudio, se les sometió a diferentes técnicas apropiadas para la detección e identificación del agente bacteriano causal y/o sus antígenos o toxinas.

RESULTADOS:

El agente etiológico mas frecuentemente aislado ha sido *Salmonella* spp. con una 56,41% de los casos seguida de *Campylobacter* spp. con un 38,87%. Así, del total de muestras de heces procesadas en nuestro laboratorio durante el periodo de estudio, se han aislado 412 (38,87%) cepas correspondientes a *Campylobacter* spp., 598 (56,41%) a *Salmonellas* spp., 21 (1,98%) a *Aeromonas* spp., 28 (2,64%) a *Yersinias* spp. y 1 (0,09%) a *Shigellas* spp. Del genero *Campylobacter*, 17 de ellos (4,13 %) corresponde a *Campylobacter coli*, 380 (92,23%) a *Campylobacter jejuni* y 15 (3,64%) a *Campylobacter* spp. sin identificación de especie. Del genero *Salmonellas*, 2 de ellas (0,33%) corresponden a *Salmonella* Arizona, 5 (0,84%) a S. grupo A, 250 (41,81%) a S. grupo B, 24 (4,01%) a S. grupo C1, 27 (4, 51%) a S. grupo C2, 257 (42,98%) a S. grupo D, 1 (0,17%) a S. grupo G y 32 (5,35%) a *Salmonella* spp. no tipables.

DISCUSIÓN:

Según los resultados obtenidos, se aprecia de forma comparativa, desglosado por años, los enteropatógenos causantes de diarrea aguda y persistente, mostrando que la circulación de los gérmenes fue más o menos similar en cada uno de los años analizados, predominando en todos los del Género *Salmonella* y *Campylobacter*.

A la vista de los resultados obtenidos a lo largo de esta década podemos concluir que los protocolos y/o medidas de prevención y/o higiénico-sanitarias instauradas en nuestro área de influencia han resultado satisfactorias con una disminución de un 35,23% a 2,67% de infecciones por enteropatógenos.

Aunque las infecciones por enteropatógenos han sufrido una disminución en los últimos años, se debe dar continuidad a una actividad educativa sobre la población tendente a modificar hábitos que hagan que estas infecciones sean cada vez menos frecuentes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 003

EVOLUCION DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE LOS AISLADOS DEL GÉNERO SALMONELLA EN EL AREA SANITARIA NORTE DE HUELVA DURANTE LOS AÑOS 2003/2014.

Autor/a/s: GARCIA VELA, JOSE HERMINIO y FRANCO ALVAREZ DE LUNA, FRANCISCO

Centro de trabajo: HOSPITAL DE RIOTINTO (AGSNH)

Localidad: MINAS DE RIOTINTO

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

RESUMEN:

La alta incidencia de los procesos infecciosos entéricos en la población en general junto con sus elevados índices de morbi-mortalidad entre determinados grupos etéreos (niños y ancianos) hace que este tipo de patología constituya un motivo de especial interés tanto desde el punto de vista clínico como microbiológico. Dentro de los enteropatógenos, *Salmonella* spp. es el germen mas frecuentemente aislado como causante de gastroenteritis aguda (GEA). El mecanismo patogénico de la diarrea causada por *Salmonella* spp. ha sido investigado

y se ha descrito que la invasividad no es el único factor involucrado, sino que se plantea que la presencia de una enterotoxina, cuyo mecanismo de acción no está aún aclarado, sea también responsable de la enfermedad. Está bien establecido que *Salmonella* spp. se adhiere al epitelio de la mucosa en su proceso de invasión, alterando el borde en cepillo y las células epiteliales, teniendo una preferencia por las placas de Peyer. El reservorio de *Salmonella* spp. es el hombre, los animales domésticos y salvajes; pudiendo ser transmisible días, semanas o meses en portadores y su mecanismo de transmisión puede ser directo a través de vía fecal-oral o indirecta a través de alimentos contaminados como huevo o carne. El objetivo de este trabajo es el estudio de la evolución de la resistencia a los antimicrobianos de *Salmonella* spp. en el Área Sanitaria Norte de Huelva, durante los años 2003 a 2014.

INTRODUCCIÓN:

Las enfermedades gastrointestinales de origen infeccioso constituyen un problema de salud importante para los países subdesarrollados. Se calcula que los niños menores de dos años de edad sufren hasta diez episodios de diarrea por año y que las muertes por diarrea se aproximan a cuatro millones por año a nivel mundial. Un avance sustancial en la reducción de las muertes asociadas a diarrea y deshidratación ha sido el uso de las sales de rehidratación oral (SRO). Hoy en día la mortalidad por diarrea se concentra fundamentalmente en aquellos episodios que aunque pequeños en número, se prolongan por más de 14 días, creando una afectación severa del estado nutricional. El principal objetivo del tratamiento es la reposición de líquido y electrolitos. Los pacientes gravemente deshidratados y los que tengan intolerancia oral serán tratados con soluciones intravenosas. Se considera que menos del 10% de los casos se beneficia del tratamiento antimicrobiano, cuya indicación depende de la gravedad de la infección, el organismo causal y el estado inmunológico del paciente.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Durante el periodo de estudio (2003-2014) se procesaron un total de 7055 muestras de heces. Todas las muestras clínicas de heces se procesaron según los protocolos habituales de nuestro laboratorio. Las muestras fueron sembradas en los siguientes medios de cultivo: Agar Sangre, Agar MacConkey, Agar *Salmonella*-*Shigella* (SS), Agar Yersinia, Agar *Campylobacter*, y medio Selenito (de Biomérieux® y Soria-Melguizo®). A las colonias sospechosas y morfológicamente compatibles con *Salmonella* spp. (Colonias SH2+ en Agar SS y lactosa negativa en Agar MacConkey) se les sometió a una prueba de aglutinación en portaobjetos mediante antígenos somáticos (O). Se comenzó enfrentando las cepas al antisuero Polivalente (A-I & Vi) que abarca los grupo A hasta G. En el caso de que se produjera aglutinación, procedimos a enfrentar la cepa con los antisueros individuales para determinar el serotipo específico al cual pertenecía el aislado. En caso de no obtuviéramos aglutinación con el antisuero Polivalente A-I & Vi, analizamos el aislado con el antisuero Vi. Finalmente, a todas las aislados que aglutinaron con el antisuero Polivalente A-I & Vi, se les realizó una identificación adicional y estudio de sensibilidad a los antimicrobianos mediante el sistema automatizado MicroScan (Siemens®).

RESULTADOS:

Del total de muestras de heces procesadas en nuestro laboratorio durante el periodo de estudio se han aislados 598 (56,41%) cepas de *Salmonellas*. De ellas, 2 (0,33%) corresponden a *Salmonella* Arizona, 5 (0,84%) a S. serogrupo A, 250 (41,81%) a S. serogrupo B, 24 (4,01%) a S. serogrupo C1, 27 (4,51%) a S. serogrupo C2, 257 (42,98%) a S. serogrupo D, 1 (0,17%) a S. serogrupo G y 32 (5,35%) a *Salmonella* spp. La gran mayoría de los aislamientos se muestra sensible frente a los antimicrobianos frecuentemente empleados en el tratamiento de la GEA.

CONCLUSIONES:

Aunque el número de muestras clínicas se ha mantenido durante esta década, el número de episodios producidos por *Salmonella* spp., en nuestra Área de Salud, ha ido disminuyendo considerablemente en los últimos tres años, debido principalmente a los programas higiénico sanitarios desarrollados.

En nuestra área de influencia la mayoría de las manifestaciones de diarrea han sido producidas por *Salmonella* spp., siendo el primer enteropatógeno causante de GEA.

En cuanto a la sensibilidad a los diferentes antimicrobianos, es de destacar, la ausencia de resistencias frente al grupo de las quinolonas y la disminución de aislamientos resistentes frente antimicrobianos empleados como alternativas al tratamiento, como el cotrimoxazol

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 004

DESCRIPCION DE UN METODO SENCILLO PARA DETECTAR ANTIMICROBIANOS EN MUESTRAS DE ORINA PROCESADAS PARA UROCULTIVO

Autor/a/s: M^a DOLORES HERNANDEZ CERVANTES - MARINA SANZ FIGUEROA - M^a TERESA CEPILLO CUADROS - OBDULIA SANCHEZ DOMINGO - ELENA RUIZ SERRANO

Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO LOS ARCOS DEL MAR MENOR

Localidad: POZO ALEDO - SAN JAVIER

Correo electrónico del primer firmante: loherlescer@hotmail.com

RESUMEN:

Las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen una de las entidades clínicas más prevalentes y llevan implícita una importante morbilidad. El diagnóstico de las ITUs representa una importante carga de trabajo en el laboratorio de microbiología, imprescindible para el diagnóstico etiológico y la adecuación del tratamiento antimicrobiano. El urocultivo de la muestra es el método de referencia que, junto con el análisis del sedimento de orina, confirman el diagnóstico clínico de este tipo de infección.

Si el paciente está recibiendo tratamiento antibiótico en el momento de la recogida de la muestra, éste puede afectar al crecimiento bacteriano, dando como consecuencia urocultivos con un bajo recuento del microorganismo causante o incluso ser negativos.

OBJETIVO:

Detectar y valorar la existencia de Antimicrobianos en orinas recibidas en el laboratorio de microbiología para urocultivo con el fin de evitar la búsqueda de uropatógenos no habituales en aquellas muestras con sedimento patológico y cultivo habitual negativo.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Preparar una suspensión de turbidez 0,5 de McFarland con la cepa de referencia de *E. coli* ATCC 25922 en 3ml. de solución salina 0.45%.

Con dicha suspensión sembrar una o varias placas de Mueller-Hinton (Biomérieux®). La siembra se realiza en varias direcciones para asegurar una distribución uniforme y completa del inóculo sobre toda la placa.

A estas placas se le unen otras vacías, a las que previamente se les coloca una transparencia con numeración consecutiva (figura 1) que se corresponde con esos mismos números asignados previamente a cada orina.

Una vez hecha la siembra de la muestra de orina en Agar CPS o CLED (Biomerieux®), con el mismo asa picamos 1 microlitro de orina en la placa a la que hemos colocado la plantilla numerada. Hay que tener en cuenta que el número asignado a la orina debe ser el mismo que el picado en la placa numerada (figura 2).

Estas placas se incubarán en estufa a 37° C durante 24h, y pasado este tiempo se procederá a su lectura.

Durante la incubación, la cepa de E. coli ATCC 25922 crece en la superficie de la placa, salvo donde se ha inoculado la orina con concentración de antimicrobiano suficientemente alta como para inhibir el crecimiento de la cepa control. El resultado sería la aparición de un halo de inhibición (figura 3). Los números que tengan dicho halo alrededor, los unimos con sus urocultivo correspondientes y podemos decir que esa orina contiene antimicrobianos. En el resultado del urocultivo se informará si se detectan antimicrobianos en orina.

RESULTADOS:

Durante 6 meses se buscaron antimicrobianos en todas las orinas que se cultivaron en el laboratorio de Microbiología del HULAMM, procedentes de Atención Primaria, Consultas Externas, Urgencias y Hospitalización.

El total de orinas con cultivo negativo fue de 4952, y en 263 de ellas se detectaron con antimicrobianos (5,3%)

Las orinas con cultivo positivo fueron 2075 y de estas, en 74 se detectó antimicrobianos (3,5%)

También se pudo comprobar la distribución que hay entre las orinas con antimicrobianos y las edades de los pacientes; observando que el índice de orinas positivas con antimicrobianos va aumentando paulatinamente con la edad, hasta aumentar de manera considerable en los >60 años

Por último observamos que del total de cultivos positivos con detección de antimicrobianos (n=74), en 18 (24,3%) de ellos, se aislaron patógenos multiresistentes.

CONCLUSIONES:

La detección de antimicrobianos en las orinas procesadas para Urocultivo nos ha permitido:

1. Evitar la búsqueda de patógenos de crecimiento lento en aquellos orinas con urocultivo negativo y sedimento patológico.
2. Considerar en el Urocultivo recuentos inferiores a 100.000 UFC/ml como significativos de infección urinaria en ausencia de información clínica sobre los síntomas/signos del paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 005

UTILIDAD DE UNA GUÍA VISUAL PARA IDENTIFICAR BACTERIAS UROPATÓGENAS

Autor/a/s: M^a DOLORES HERNANDEZ CERVANTES - MARINA SANZ FIGUEROA - M^a TERESA CEPILLO CUADROS - OBDULIA SANCHEZ DOMINGO - ELENA RUIZ SERRANO

Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO LOS ARCOS DEL MAR MENOR

Localidad: POZO ALEDO - SAN JAVIER

Correo electrónico del primer firmante: loherlescer@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El propósito del análisis microbiológico de una muestra de orina es determinar si existe una infección urinaria, y si existe identificar el microorganismo que la produce así como su patrón de sensibilidad antibiótica. El urocultivo es el método de referencia que, junto con el análisis del sedimento de orina, confirman el diagnóstico clínico de este tipo de infección. En la sección de urocultivos de nuestro laboratorio existe un protocolo normalizado de trabajo (PNT) que describe el procesamiento de la orina; sin embargo, no disponíamos de ninguna guía visual de colonias bacterianas que facilitara su identificación, bien directamente o junto a pruebas intermedias como Indol (Biomerieux®), Citocromo oxidasa (Biomerieux®), Catalasa o Coagulasa (Staphaurex®).

OBJETIVOS:

Crear una guía visual de identificación de uropatógenos más usuales en agar CLED (Biomerieux®), y medio cromogénico CPS (Biomerieux®), así como evaluar su utilidad para el Técnico Superior de Laboratorio en su rutina de trabajo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Tras homogeneizar las orinas, éstas se sembraron en masa, empleando asa calibrada de 1 ¼L, en los siguientes medios de cultivo: Agar CLED (medio diferencial que distingue fermentadores y no fermentadores de lactosa) y Agar CPS (medio cromogénico). Tras la incubación de las placas a 37° durante 24 horas (cuando se requiere 48 horas), se contó el número de colonias y el resultado se multiplicó por 1000, ya que el asa contiene 0,001 ml. de orina. Los urocultivos cuyo resultado es positivo se trabajarán de acuerdo a la guía visual realizada. Cabe destacar que para interpretar el resultado del urocultivo, es necesario también el resultado del sedimento urinario. En nuestro laboratorio los resultados de éste último son informados por el laboratorio de Bioquímica en la misma petición. Escapa al objetivo de esta guía visual de uropatógenos más usuales la búsqueda de microorganismos especiales, ya que estos se sembrarán en medios selectivos a petición facultativa.

Se recopilaron fotografías de los uropatógenos más frecuentes y posteriormente se procedió a su edición en la guía visual mostrada. Durante 12 meses, para la lectura de placas e interpretación de los urocultivos se utilizó la guía visual y el PNT de urocultivos, respectivamente

RESULTADOS:

En los urocultivos procesados durante 12 meses y mediante la utilización de esta guía visual se llegaron a identificar los siguientes microorganismos:

- 53,5% E. coli ; 13,5% Enterococcus sp;
- 10,8% Klebsiella sp.; 5,5% Proteus mirabilis;
- 3,5% P. aeruginosa; 3,3% Staphylococcus sp;
- 1,7% Morganella morganii; 1,7% Providencia sp
- 1,4% Enterobacter sp; 5 % otros

CONCLUSIONES:

Siguiendo la guía visual el Técnico Superior de Laboratorio identificó el 95% de los microorganismos uropatógenos objeto de estudio, optimizando considerablemente su trabajo y el del Facultativo.

Número: 006

RENTABILIDAD DE LAS MUESTRAS NASAL Y AXILAR PARA DETECCIÓN DE COLONIZACIÓN POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILIN RESISTENTE (SARM)

Autor/a/s: M^a DOLORES HERNANDEZ CERVANTES MARINA SANZ FIGUEROA M^a TERESA CEPILLO CUADROS ELENA RUIZ SERRANO M^a del MAR JIMENEZ ANTON

Centro de trabajo: HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO LOS ARCOS DEL MAR MENOR

Localidad: POZO ALEDO - SAN JAVIER

Correo electrónico del primer firmante: loherlescer@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El ser humano constituye el reservorio principal de Staphylococcus aureus, hallándose en los portadores sanos especialmente en las fosas nasales, así como en pacientes infectados. Las cepas de S. aureus meticilin resistentes (SARM) son también resistentes a todos los antibióticos betalactámicos disponibles. Además la mayoría de estas cepas acumulan resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos. La vigilancia de la colonización por estos microorganismos en nuestro hospital se realiza, en pacientes que provienen de ambientes con alta prevalencia de bacterias multiresistentes con el fin de realizar aislamiento de contacto al ingreso en caso de positividad, así como en pacientes que van a ser sometidos a cirugía electiva de artrodesis de prótesis de cadera o rodilla para proceder a la descolonización previa a la intervención y/o modificar la profilaxis antibiótica durante la misma.

OBJETIVOS:

Determinar la rentabilidad de las muestras nasales y axilares en la búsqueda de SARM de los pacientes a los que se realiza la vigilancia de colonización por este microorganismo.

MATERIALES Y METODOS:

Durante 5 años (Enero 2010 a Diciembre 2014) se tomaron 2710 muestras nasales y de zona axilar, a pacientes susceptibles de estar colonizados (pacientes que provenían de centros sociosanitarios) y pacientes programados para intervención quirúrgica de implantes de prótesis de cadera o de rodilla.

A cada uno de los pacientes se le realizó toma con hisopos estériles, tanto de fosas nasales como de zona axilar. Cada uno de los hisopos se introdujo en un tubo de Tioglicolato (Biomerieux®). Se incubaron en estufa de 37°C durante 24 horas y posteriormente se realizó un pase a medio cromogénico MRSA (Biomerieux®) el cual fue incubado igualmente a 37°C el mismo periodo de tiempo. Tal y como indica el fabricante, las colonias púrpuras (Fig. 1) son identificadas como SARM. Para su comprobación se realizó test de látex de coagulasa (Staphaurex Plus, Remel®) y antibiograma en Vitek 2 (Biomerieux®) cuando el test de la coagulasa fue positivo.

RESULTADOS:

Total Parejas Axilar/Nasal=1355	Nº Parejas Axilar/Nasal	%
Axilar SARM-/Nasal SARM	1228	90,6%
Axilar SARM+/Nasal SARM		
Axilar SARM-/Nasal SARM+	127	9,4%
Axilar SARM+/Nasal SARM+		
Nº Parejas Axilar/Nasal	Total Parejas POSITIVAS Axilar y/o Nasal=127	%

Total Parejas Axilar/Nasal=1355	Nº Parejas Axilar/Nasal	%
Axilar SARM-/Nasal SARM+	80	63%
Axilar SARM+/Nasal SARM+	32	25,2%
Axilar SARM+/Nasal SARM-	15	11,8%

CONCLUSIONES:

Detectamos baja prevalencia de SARM (9,4%) en los pacientes en los que se realizó la vigilancia en los 5 años estudiados.

Los resultados indican una baja rentabilidad de la muestra axilar como única muestra positiva para SARM (1,1% del total de pacientes) frente a la muestra nasal (8,3%).

Número: 008

COMPARACION DE METODO RAPIDO INMUNOCROMATOGRAFICO Y METODO DE QUIMIOLUMINISCENCIA INDIRECTA PARA LA DETERMINACION DE ANTICUERPOS IGG ANTI HELICOBACTER PYLORI.

Autor/a/s: GARCIA VELA, JOSE HERMINIO y FRANCO ALVAREZ DE LUNA, FRANCISCO

Centro de trabajo: HOSPITAL DE RIOTINTO (AGSNH)

Localidad: MINAS DE RIOTINTO

Correo electrónico del primer firmante: jhgvela@yahoo.es

RESUMEN:

Helicobacter pylori tiene una distribución mundial con alta prevalencia. La infección con H. pylori es una causa bien establecida de úlcera gástrica y duodenal y la infección persistente es un factor de riesgo de carcinoma y linfoma gástrico. Las pruebas de ELISA son sensibles, específicas y eficaces para el diagnóstico de pacientes no tratados. Los métodos de detección basados en quimioluminiscencia han recibido mucha atención debido a sus menores fondos, linealidad y amplio rango dinámico. Cuando se acoplan a inmunoensayos enzimáticos, el efecto de amplificación de la señal proporcionada por la enzima permite el diseño de pruebas de CLIA (ChemiLuminescent ImmunoAssay) con tiempos de incubación más cortos, manteniendo o mejorando su sensibilidad. En el presente estudio realizamos una comparación de un método rápido de detección cualitativa de anticuerpos (inmunoensayo cromatográfico) con un método CLIA (ChemiLuminescent ImmunoAssay).

INTRODUCCIÓN:

El uso analítico de la quimioluminiscencia (QL) está experimentando un creciente interés, ya que representa una alternativa simple, barata y sensible para cuantificar una gran variedad de compuestos. Desde hace unos treinta años, el fenómeno de la luminiscencia -originalmente una curiosidad del laboratorio físico-, se ha convertido en una rama de la espectrometría aplicada, dentro de la química analítica. Debido a la nueva instrumentación y, especialmente a la incorporación de técnicas modernas, algunas nuevas y otras tomadas de otras disciplinas, la QL y la bioluminiscencia (BL) se aplican de forma rutinaria en el análisis tanto cuali- como cuantitativo. Aunque el fenómeno de la QL se conoce desde 300 años a.C., el desarrollo de aplicaciones analíticas es relativamente reciente. Debido a su alta sensibilidad y selectividad, los métodos basados en detecciones QL suponen una herramienta analítica de gran utilidad. La primera aplicación de la QL como técnica analítica la llevó a cabo Erdey en 1957, que estudió el uso de varias sustancias, como luminol, lofina y lucigenina como indi-

CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIGÉNICO: ALGORITMO DIAGNÓSTICO EN NUESTRA ÁREA DE INFLUENCIA

Autor/a/s: MONTSERRAT LOPEZ GUTIERREZ, M^a TERESA DOMINGUEZ LÓPEZ, M^a DOLORES DIAZ ZAYAS.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO REGIONAL DE MÁLAGA

Localidad: MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: montse-mami@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Clostridium difficile es la primera causa de diarrea asociada al uso de antimicrobianos, pudiendo causar desde diarrea leve hasta cuadros graves de colitis pseudomembranosa. Se requiere un diagnóstico rápido que permita una rápida intervención sobre el paciente y que se evite la transmisión nosocomial.

OBJETIVOS:

Hemos querido conocer la prevalencia de Clostridium difficile toxigénico en nuestro hospital aplicando nuestro algoritmo diagnóstico. En la literatura se aconseja comenzar el diagnóstico con una prueba de screening de alta sensibilidad, como la detección del antígeno glutamato-deshidrogenasa (GDH) de Clostridium difficile y confirmando los casos con técnicas muy específicas que detecten toxinas A y B.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El algoritmo diagnóstico que realizamos en nuestro laboratorio comienza con un test inmunoensayo C.Diff-Quik-Chek Complete (TechLab®) que detecta simultáneamente la enzima GDH y las toxinas A y B. La principal ventaja de este inmunoensayo es la rapidez de los resultados en 15-30 minutos. Si ambas determinaciones son positivas o negativas se informan al momento.

Cuando el resultado es discordante (GDH (+)/Toxina (-)) estudiamos las cepas mediante técnicas moleculares con una PCR múltiple a tiempo real, Xpert C.difficile (Cepheid®), que detecta en menos de una hora las secuencias de los genes de la toxina B, toxina binaria y delección del gen tcdC (ribotipo 027).

RESULTADOS:

Entre Enero del 2012 y Septiembre del 2014 recibimos 22.769 coprocultivos (7.789 en 2012, 8.304 en 2013 y 6.676 desde Enero a Septiembre de 2014). De estos, se solicitaron 3600 peticiones de investigación de Clostridium difficile, (1.121 en 2012, 1.272 en 2013 y 1.207 en 2014) de las cuales se testaron 3.318 y el resto (282) se rechazaron por heces formes.

La detección de la enzima (GDH) y de las toxinas fue negativa en 2944 muestras (88.8%), 175 muestras fueron positivas (5.2%) y en 199 muestras (6%) presentaron resultados discordantes (GDH (+)/Toxinas (-)).

A estas 199 muestras se les realizó el ensayo Xpert C.difficile de las que 104 fueron positivas y 92 negativas. Se detectaron 6 cepas de Clostridium difficile productoras de toxina binaria y no se detectó ninguna cepa hipervirulenta perteneciente al ribotipo 027. En 3 muestras la PCR se inhibió y se solicitó nueva muestra.

CONCLUSIONES.

El test de detección conjunta de enzima GDH y toxinas permite realizar simultáneamente los dos primeros pasos de los algoritmos recomendados, suponiendo un ahorro de tiempo y una buena relación coste-efectividad.

La PCR utilizada es una técnica rápida y sencilla que permite el diagnóstico de cepas toxigénicas, así como la detección de toxina binaria y ribotipo 027.

cadres volumétricos. Las investigaciones sobre el potencial analítico de la QL para análisis de rutina datan de los años 70, en el caso de reacciones en fase gaseosa, y de la década de los 80 para reacciones en fase líquida. Desde entonces, los métodos quimioluminiscentes han sido más ampliamente utilizados, fundamentalmente en análisis bioquímico y ambiental, y el número de publicaciones y comunicaciones sobre el tema ha ido incrementando de forma exponencial. Hoy en día, el interés analítico de la QL está aumentando considerablemente debido a las ventajas ya comentadas, como bajos límites de detección, rangos dinámicos amplios, alta sensibilidad y la gran versatilidad de los métodos QL.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Los ensayos que hemos utilizado son por una parte un inmunoensayo de flujo lateral para la detección cualitativa rápida de anticuerpos de IgG específicos para *H. pylori* en suero, plasma o sangre completa humanos. En este método, se agrega una gota de suero, plasma o sangre completa al cartucho de ensayo. Si la muestra del paciente contiene anticuerpos IgG específicos para *H. pylori*, en la ventana de resultados se observa una tenue línea de ensayo de color rosado a rojo que indica un resultado positivo, así como una línea de control del procedimiento de color azul. El otro, es método de CLIA basado en la reacción de los anticuerpos de la muestra con el antígeno unido a la superficie de poliestireno. Las inmunoglobulinas no unidas por reacción con el antígeno son eliminadas en el proceso de lavado. En un paso posterior la globulina anti humana reacciona con el complejo antígeno-anticuerpo, y la que no se une es eliminada por los lavados; la unida reacciona con el sustrato quimioluminiscente que generará una luminiscencia de brillo prolongado que puede leerse con un luminómetro.

RESULTADOS:

Para nuestro estudio, hemos evaluado un total de 23 muestras de pacientes comprendidos entre los 15 y 65 años. De ellos hemos detectado la presencia de anticuerpos IgG específicos para *H. pylori* por ambos métodos en 3 (13,04%) de las muestras. En 6 (26,07%) hemos obtenido un resultado negativo por ambos métodos. Por otro lado hemos obtenido una diferencia de resultados en 14 (60,87%) de las muestras estudiadas presentando un resultado negativo para el método rápido inmunocromatográfico y positiva para el método de quimioluminiscencia. Por edades, esta diferencia en los resultados obtenidos por ambos métodos ha sido del 14,28% (2 pacientes) en el intervalo de 15-30 años, un 50% (7 pacientes) en el intervalo de 31-50 años y un 35,71% (5 pacientes) en el intervalo de 51-65 años, estos dos últimos intervalos, donde se localizan la mayoría de los pacientes positivos y con discrepancias en los resultados.

CONCLUSIONES.

El método por quimioluminiscencia se presenta como una alternativa eficaz frente a técnicas serológicas tradicionales por su alta especificidad y sensibilidad (100%).

Ambos métodos utilizados, simplifican la detección de anticuerpos frente a *H. pylori*, siendo ambos, dos técnicas de fácil acceso y no invasivas.

En nuestro estudio comparativo, la quimioluminiscencia, a diferencia de la técnica inmunocromatográfica, ha resultado reactiva en el 60,87% de las muestras. Probablemente debido a que las técnicas de CLIA son capaces de detectar bajas concentraciones de anticuerpos (concentración en el orden de los picogramos) y presentan una baja reactividad cruzada.

ETIOLOGÍA Y SENSIBILIDAD DE ENTEROPATÓGENOS AISLADOS EN NUESTRO SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA

Autor/a/s: M^a TERESA DOMINGUEZ LOPEZ, M^a DOLORES DIAZ ZAYAS, MONTSERRAT LOPEZ GUTIERREZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO REGIONAL DE MALAGA

Localidad: MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: dominguezmaite@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las infecciones agudas gastrointestinales figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes. La participación de los distintos microorganismos difiere de unas áreas geográficas a otras y del grupo de población estudiada.

OBJETIVOS:

Conocer la etiología de los distintos agentes enteropatógenos (bacterianos y virales) y la sensibilidad de los principales aislados bacterianos en la población atendida en el Hospital Universitario Regional de Málaga.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han revisado de manera retrospectiva los estudios microbiológicos de heces de pacientes con gastroenteritis, procesadas en nuestro laboratorio desde enero de 2013 a agosto del 2014. Las muestras se procesaron según protocolos normalizados de trabajo del laboratorio. La identificación de las especies bacterianas *Aeromonas* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Plesiomonas* spp., *Yersinia enterocolitica* y *Campylobacter* spp. se realizó mediante espectrometría de masas MALDI-TOF Microflex[®] (Bruker Daltonics, Bremen-Alemania) y reacciones de aglutinación en placa con antisueros para *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. El estudio de sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema comercial automatizado Vitek2[®] (bioMérieux) y para el estudio de sensibilidad de *Campylobacter* spp. se utilizó la técnica de difusión con tiras de E-test en agar Mueller-Hinton sangre incubado a 42°C en atmósfera de microaerofilia. Los puntos de corte utilizados para la interpretación de los resultados fueron los de EUCAST (2013) para eritromicina, ciprofloxacino y tetraciclina.

Las muestras procedentes de niños menores de 5 años se testaron para la detección de Rotavirus y Adenovirus (CerTest BIOTEC) por métodos inmunocromatográficos cualitativos.

RESULTADOS:

Se procesaron un total de 9.734 coprocultivos, de los cuales 446 (4.58%) fueron positivos, 244 aislados correspondieron a *Campylobacter* spp. (2.5%), 172 *Salmonella* spp. (1.8%), 15 *Yersinia enterocolitica* (0.15%), 11 *Aeromonas* spp. (0.11%), 3 *Shigella* spp. (0.03%) y 1 *Plesiomonas shigelloides* (0.01%). *C. jejuni* y *Salmonella* spp. representaron el 85% (379) de todos los enteropatógenos aislados. La sensibilidad de los principales aislados fue: a) *C. jejuni*, el 95% de las cepas fueron sensibles a eritromicina y 50% a ciprofloxacino. b) *Salmonella* spp., 61% de los aislados fueron sensibles a ampicilina, el 92% a amoxicilina-clavulánico, el 65,2% a ciprofloxacino y el 83,1% a cotrimoxazol.

De las 1800 muestras pediátricas, 169 (9,4%) fueron positivas: 136 (7.5%) Rotavirus y 33 (1.9%) Adenovirus entéricos.

CONCLUSIONES:

Los enteropatógenos más frecuentemente aislados fueron *Campylobacter jejuni* y *Salmonella* spp.

Sólo un 5% de las cepas de *C. jejuni* aisladas en nuestro medio fueron resistentes a eritromicina y un 50% a fluorquinolonas.

Salmonella spp. presenta un 35% de resistencias a fluorquinolonas, siendo más sensible a amoxicilina-clavulánico y SXT.

CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN MUESTRAS CUTÁNEAS

Autor/a/s: M^a DOLORES DÍAZ ZAYAS, M^a TERESA DOMINGUEZ LOPEZ, MONTSERRAT LOPEZ GUTIERREZ.

Centro de trabajo: H. C. AXARQUÍA

Localidad: VÉLEZ-MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: jmyonte@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las infecciones de piel y partes blandas son un motivo de consulta frecuente y originan una parte importante de las prescripciones de antibióticos en la práctica médica en Atención Primaria y ocupando el primer lugar en cuanto a frecuencia entre las producidas por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociándose frecuentemente con multirresistencia a otros antimicrobianos.

OBJETIVOS:

Nuestro objetivo es conocer la evolución y características de la infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en infecciones de piel y partes blandas en Atención Primaria.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio retrospectivo de todas las muestras de exudados de piel y partes blandas recibidos para estudio bacteriológico procedentes de Atención Primaria durante el periodo 2010-2014. Las muestras fueron procesadas según recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). La identificación y el estudio de resistencia a antimicrobianos se realizaron utilizando el sistema automatizado Vitek[®]2 (bioMérieux).

RESULTADOS:

Se han recibido 8.322 muestras para su estudio. La distribución por años fue la siguiente:

AÑO	MUESTRAS	S. aureus		SARM	
		Nº	%	Nº	%
2010	923	187	20,26%	24	12,83%
2011	1678	296	17,64%	44	14,86%
2012	2308	287	12,44%	33	11,50%
2013	2152	269	12,50%	35	13,01%
2014	1261	212	16,81%	28	13,21%
TOTAL	8322	1251	15,03%	164	13,11%

95 de los aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina procedían de mujeres (57,93%) y 69 (42,07%) de hombres. La edad media de los pacientes en los que se aisló fue de 66 años. En 128 casos (78,05%) el aislamiento se produjo en mayores de 45 años y en 92 casos (56,10%) eran mayores de 65 años. La sensibilidad (%S) comparada de los aislamientos de *S. aureus* y *S. aureus* resistente a meticilina fue la siguiente:

	S. aureus					
	2010	2011	2012	2013	2014	TOTAL
Oxacilina	82,68	82,73	87,91	87,79	84,91	85,41
Vancomicina	99,22	100	100	100	99,52	99,80
Eritromicina	76,38	78,38	60,47	46,01	9	52,43
Gentamicina	88,19	94,14	92,06	88,37	87,26	90,28
Linezolid	-	98,68	98,60	98,59	99,53	98,86
Daptomicina	-	-	100	100	100	100

	S. aureus resistente a meticilina					
	2010	2011	2012	2013	2014	TOTAL
Oxacilina	-	-	-	-	-	-
Vancomicina	100	100	100	100	96,77	99,30
Eritromicina	40,91	36,84	50	30,77	3,13	31,25
Gentamicina	90,91	94,74	92,31	84,62	78,13	88,19
Linezolid	-	100	100	92,31	100	98,11
Daptomicina	-	-	100	100	100	100

CONCLUSIONES:

Existe una disminución en el número de aislamientos anuales de S. aureus totales, con un repunte de S. aureus resistente a meticilina desde 2013, aislándose con mayor frecuencia en mujeres.

Los aislamientos de S. aureus resistente a meticilina se producen preferentemente en personas mayores de 45 años, y más de la mitad en mayores de 65 años.

Los aislamientos de S. aureus resistente a meticilina se asocian a mayor resistencia a otros antimicrobianos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 034

SUPERBACTERIAS RESISTENTES A LOS ANTIBIOTICOS)

Autor/a/s: Maria Concepcion Vega Vargas, Maria del Carmen Diaz Quiros, Elena Torres Carrasco

Centro de trabajo: Hospital Medico Quirurgico Ciudad de Jaen

Localidad: Jaen

Correo electrónico del primer firmante: mcvv0104@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los antibióticos fueron unos de los grandes avances de la medicina moderna y su pérdida de eficacia es uno de los grandes problemas de la contemporánea. Cuanto más usamos y abusamos de los antibióticos más resistentes se hacen a ellos.

Los antibióticos están diseñados para matar las bacterias que causan infección, sin embargo en el proceso, también pueden matar a las llamadas bacterias buenas que alberga el cuerpo humano.

Cada vez que una persona toma antibióticos, las bacterias sensibles mueren, pero los gérmenes resistentes, pueden permanecer para crecer y multiplicarse. El repetido e inadecuado uso de los antibióticos, es la causa principal del incremento de bacterias resistentes a los medicamentos.

OBJETIVO:

Poner en conocimiento a la población de que el uso excesivo e inadecuado de los antibióticos, es la causa principal del incremento de bacterias resistentes a los mismos (conocidas como superbacterias).

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se seleccionaron muestras de 90 pacientes para el estudio y aislamiento de tres tipos de bacterias.

NEISSERIA GONORRHOEAE. Esta bacteria causa gonorrea, la cual puede provocar una variedad de enfermedades, incluyendo infertilidad. En casi un tercio de los casos el tratamiento es difícil por el aumento de la resistencia a los antibióticos.

BACTERIA CRE (Enterobacteria resistente al Carbapenem). Dentro de este grupo está incluida la E. Coli. Algunas bacterias CRE son resistentes a todos los antibióticos.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE. Causa diarrea y puede resultar mortal. La mayoría de los pacientes que contraen esta infección están tomando antibióticos para combatir otras infecciones.

El material utilizado fue placas de Muller-Hilton y discos de diferentes antibióticos para la realización de antibiogramas.

RESULTADOS:

Del estudio realizado se obtuvo que el 25% de las bacterias aisladas eran resistentes a todos los antibióticos.

Algunas de las personas estudiadas tienen 100 veces más resistencia a algunos antibióticos que la media.

Los resultados de este estudio concluyen que los antibióticos a los que más resistencia hay son aquellos que llevan más tiempo en el mercado y también dependiendo de la zona donde se resida, hay más resistencia a los antibióticos que se usan en animales cuya carne se destina al consumo humano.

CONCLUSIONES:

El mal uso de los antibióticos, sin seguir la prescripción médica, ignorando el periodo completo de tratamiento, han hecho que estas superbacterias hayan desarrollado inmunidad a muchos de ellos e incluso a todos. Gran parte de la culpa de la aparición de superbacterias la tiene el ser humano. Cambiar la forma en que usamos los antibióticos, tal vez es la medida más importante necesaria para disminuir considerablemente el desarrollo y propagación de infecciones resistentes a los antibióticos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 040

CEPAS DE E COLI Y K PNEUMONIAE PRODUCTORAS DE ²-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) AISLADAS EN EL ÁREA SUR DE SEVILLA

Autor/a/s: Morales Galán Pilar, García López José Luis, Martín Mazuelos Estrella

Centro de trabajo: Hospital de Valme

Localidad: Sevilla

Correo electrónico del primer firmante: pilarmoralesgalan@gmail.com

RESUMEN:

OBJETIVOS:

Desde la aparición de cepas de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae productoras de ²-lactamasa de espectro extendido (BLEE) ha sido un motivo continuo de preocupación. En este trabajo nos hemos propuesto conocer la situación actual en nuestra área sanitaria, así como estudiar su evolución en los últimos 6 años.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han estudiado las cepas de E coli y K pneumoniae aislados en los años 2009- 2014 a partir de todas las muestra remitidas a nuestro laboratorio, tanto de pacientes ingresados en el hospital como de los no ingresados. La identificación y el estudio de la sensibilidad se realizó mediante placas del sistema MicroScan (Siemens®) y/o Vitek 2

(BioMerieux®). Se consideraron cepas productoras de BLEE aquellas en las que la adición de ácido clavulánico a cefotaxima y/o ceftazidima produjo la disminución de 4 veces la CMI. Cuando fue necesario se confirmó mediante tiras de Etest: Cefotaxima + Ácido Clavulánico (ESBL CT/CTL) y Ceftazidima + Ácido Clavulánico (ESBLTZ/TZL) (BioMerieux®).

RESULTADOS:

Los resultados obtenidos se resumen en la siguiente tabla

	Cepas extrahospitalarias						Cepas intrahospitalarias					
	E coli			K pneumoniae			E coli			K pneumoniae		
	Total	BLEE +		Total	BLEE +		Total	BLEE +		Total	BLEE +	
	n	n	%	n	n	%	n	n	%	n	n	%
2009	2835	292	10.3	337	21	6.2	427	70	16.4	67	4	5.9
2010	3432	343	10.0	639	39	6.1	449	62	13.8	80	6	7.5
2011	3392	291	8.6	663	21	3.2	434	59	13.9	99	9	9.1
2012	3486	358	10.3	769	48	6.2	501	75	14.9	105	10	9.5
2013	4378	395	9.1	811	50	6.2	556	73	13.1	101	13	12.9
2014	4389	287	6.6	802	57	7.1	621	82	13.2	162	34	20.9
Total	21912	1966	9.0	4021	236	5.9	2988	421	14.1	615	77	12.5

CONCLUSIONES:

1.- En las cepas aisladas de pacientes no hospitalizados no se ha observado variaciones importantes en el porcentaje de cepas de E coli ni K pneumoniae productoras de BLEE. 2.- En las cepas aisladas de pacientes hospitalizados no se ha observado variaciones importantes en el porcentaje de cepas de E coli productoras de BLEE, pero si entre las cepas de K pneumoniae en las que el porcentaje se ha triplicado en estos 5 años

Mycobacterium tuberculosis durante los años 2012 a 2014.

Las muestras clínicas no estériles fueron procesadas siguiendo el protocolo de descontaminación con N-acetil-Lcisteina/NaOH y posteriormente se inocularon en medio líquido (Sistema BACTECT MGIT 960). Las muestras estériles fueron procesadas directamente.

La identificación de los aislamientos se realizó mediante el sistema Genotype Mycobacterium CM/AS de HAIN.

RESULTADOS:

De los 101 aislamientos corresponden un 69,31% a hombres y un 30,69% a mujeres, con edades comprendidas entre 20-50 años.

La localización más común fue la pulmonar, siendo el cultivo del esputo (75,25%) la prueba microbiológica que aisló con mayor frecuencia el bacilo, seguida del aspirado bronquial (11,88%).

Otras de las muestras que fueron estudiadas en menor medida fueron el líquido pleural (1,98%) y el lavado broncoalveolar (0,99%).

CONCLUSIONES:

En el presente trabajo exponemos la evaluación de la incidencia de tuberculosis respiratoria en hombres y mujeres con una edad media de 20-50 años.

El porcentaje de casos nuevos detectados y la incidencia anual ha sido similar en este estudio que en los realizados en el resto de Andalucía.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 042

PUNTA DE CATETER. CULTIVO SEMICUANTITATIVO

Autor/a/s: GONZALEZ ROSA MANUEL, SERRANO SERRANO AGUSTINA, MOYA MORENO TERESA

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen de la Victoria

Localidad: Málaga

Correo electrónico del primer firmante: manganros62@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La utilización de los dispositivos intravasculares es causa frecuente y grave de infección hospitalaria. Constituyen la principal causa de bacteriemia nosocomial y como consecuencia bacteriemia. El cultivo de dicho catéter puede ayudar al clínico a determinar si el cuadro que presenta el paciente es debido al catéter y actuar en consecuencia.

OBJETIVOS:

Descripción, lectura e interpretación de cultivos de las puntas de catéteres vasculares. Para el diagnóstico microbiológico de colonización de vías vasculares durante el año 2014 en el Hospital Virgen de la Victoria de Málaga.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Las muestras recibidas en nuestro laboratorio de microbiología son de procedencia intrahospitalaria y llegan en tarro estéril de boca ancha. Realizamos un cultivo semicuantitativo (Técnica de Maki) que nos permite diferenciar entre infección si el recuento de la placa es superior a 15 unidades formadoras de colonias o simple colonización cuando el recuento es menor de 15 unidades formadoras de colonias. La siembra se realiza en Agar Sangre con la ayuda de unas pinzas estériles se rueda el segmento del catéter por la placa. La placa de Agar Sangre la incubamos 24 horas a 37°C. La muestra a procesar es

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 041

AISLAMIENTO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DESDE EL AÑO 2012 AL 2014 EN EL HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA DE MÁLAGA

Autor/a/s: AGUSTINA SERRANO SERRANO, MARIA TERESA MOYA MORENO, DOLORES BECERRA REINA, ROSARIO MARTÍN GONZÁLEZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL VIRGEN DE LA VICTORIA

Localidad: MÁLAGA.

Correo electrónico del primer firmante: tinasese@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La tuberculosis continúa siendo una de las enfermedades infecciosas con mayor morbilidad en el mundo. En cuanto a España, es uno de los países de Europa occidental con mayor índice de tuberculosis (17 casos por cada 100.000 habitantes).

No obstante esta incidencia ha ido disminuyendo en los últimos años, aunque se ha registrado un ligero incremento de nuevas infecciones en algunas zonas del país, debido en parte al incremento de los flujos migratorios de los últimos años.

OBJETIVOS:

Conocer las características epidemiológicas en pacientes diagnosticados de tuberculosis en el área de salud perteneciente al Hospital Virgen de la Victoria de Málaga, desde el año 2012 al año 2014. Y la detección de los aspectos susceptibles de mejora para el correcto abordaje de la infección por tuberculosis.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realiza un estudio retrospectivo descriptivo de los aislamientos de

el segmento distal del catéter intravascular.

Si el segmento del catéter recibido fuese de una longitud superior, debe cortarse con un bisturí o tijeras estériles en el momento de proceder a su cultivo y procesar entre 3-5 cm correspondiente a la punta. En caso que la petición sea de hongos se añade una placa de Sabouraud con gentamicina y cloranfenicol. Se examinan las placas y si existe crecimiento de colonias efectuar su recuento, después, se efectúa la identificación de género y especie con el sistema automático MicroScan WalkAway utilizando los paneles PC32, PC31 para gran positivos o NC53 o NC54 para gran negativos. El sistema automatizado Vitek2 para la identificación de levaduras y organismos levaduriformes. Para la sensibilidad de levaduras usamos el sistema semiautomático por microdilución SENSITITRE.

RESULTADOS:

Se recibieron 753 puntas de catéter durante el año 2014 en nuestro laboratorio, de las cuales fueron positivas 316 (42%) y negativas 437 (58%).

Comprobamos que los *Staphylococcus* son los más numerosos con 183 aislamientos llegando al 58% de las muestras positivas. El germen más aislado es el *Staphylococcus epidermidis* con 114. Los siguientes fueron las bacterias gran negativas con 69 aislamientos siendo un 22% de las muestras positivas y apareciendo como el más numeroso la *Klebsiella pneumoniae* con 21.

CONCLUSIONES:

Los principales agentes causantes de infección por catéter son los estafilococos coagulasa negativo. El microorganismo que se aísla más frecuentemente es el *Staphylococcus epidermidis*, debido a que forma parte de la flora cutánea, tiene poco requerimiento nutritivo y gran capacidad de adherencia y colonización de las superficies plásticas.

Los bacilos gran negativos son menos frecuentes y están relacionados con la contaminación, extrínseca o intrínseca, de las infusiones, en cuyo caso se produce una bacteriemia.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 047

ESTUDIO DE LAS NEUMONÍAS ATÍPICAS EN EL CHUAC A CORUÑA

Autor/a/s: MARÍA LUISA FAFIÁN ARES, MARÍA JOSÉ MUIÑO ANDRADE

Centro de trabajo: CHUAC

Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: lfafare@yahoo.es

RESUMEN:

La neumonía atípica es la neumonía que no es causada por bacterias y otros patógenos tradicionales. Las bacterias que más frecuentemente causan esta patología son: *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella Burnetii*, *Legionella Pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae*.

La *Legionella pneumophila* serogrupo 1 es responsable de la mayoría de las infecciones en humanos, a menudo con manifestaciones sistémicas, es la responsable del 10% de los casos, tanto en las adquiridas como en las hospitalarias. Los pacientes en edad avanzada, los fumadores, las enfermedades crónicas e inmunodeprimidos se encuentran en un riesgo mayor. La detección de Ig G empleando técnica de ELISA, presenta muy alta especificidad (99-100%) y una mayor sensibilidad que inmunofluorescencia indirecta o hemoaglutinación. El

Mycoplasma pneumoniae produce neumonía primaria atípica primaria con mayor frecuencia en niños y adolescentes.

La neumonía por *Chlamydia* ocurre todo el año y representa del 5 al 15%, tiene gran capacidad para producir infección respiratoria especialmente bronquitis y neumonía, se asocia a la aparición de enfermedad ateromatosa y al infarto de miocardio. La seroprevalencia es baja en niños, pero puede ser superior al 50% en adultos. La fiebre Q causada por *Coxiella burnetii*, es una enfermedad sistémica que puede producir neumonía atípica, síndrome febril, hepatitis o endocarditis. Las pruebas de ELISA debido a su buena especificidad y sensibilidad son adecuadas, junto con la orientación clínica tanto para estudios epidemiológicos como para el diagnóstico en el manejo correcto de la enfermedad. Debido a su gran contagiosidad, se encuentra entre los potencialmente utilizables como arma de bioterrorismo.

OBJETIVOS:

Objetivo del estudio es conocer la prevalencia de las neumonías atípicas: *Coxiella Burnetii*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* y *Legionella pneumophila* en los últimos cinco años en el Hospital Universitario de A Coruña.

MATERIAL:

Autoanalizador TECAN GENESIS RMP 150. Reactivos: COXIELLA BURNETII ELISA IgG-

CHAMYDOPHILA PNEUMONIAE ELISA IgG LEGIONELLA PNEUMOPHILA SEROGROUP 1 ELISA IgG- MYCOPLASMA PNEUMONIAE ELISA IgG- de los laboratorios VIRCELL Microbiologists.

En el período comprendido entre los años 2010 al 2014 ambos inclusive, se analizan mediante técnicas de ELISA: 4285 *Coxiellas*, 4595 *Mycoplasmas*, 4393 *Chlamydias* y 3862 *Legionellas*.

RESULTADOS:

En el año 2010 se hacen un total de 770 *coxiellas* (697=negativas, 51=positivas, 22=dudosas), 770

mycoplasmas (364=negativas, 382=positivas, 23=dudosas), 700 *legionellas* (698=negativas, 1=positiva, 2=dudosas).

En el año 2011 un total de 887 *coxiellas* (808=negativas, 59=positivas, 20=dudosas) 960 *mycoplasmas* (259=negativas, 614=positivas, 87=dudosas), 900 *chlamydias* (393=negativas, 385=positivas, 132=dudosas) 800 *legionellas* (798=negativas, 2=positivas).

En el año 2012 un total de 851 *coxiellas* (771=negativas, 61=positivas, 24=dudosas), 935 *mycoplasmas* (339=negativos, 517=positivos, 71=dudosos), 875 *chlamydias* (377=negativas, 390=positivas, 105=dudosas) 751 *legionellas* (747=negativas, 1=positivas, 3=dudosas).

En el año 2013 se hacen un total de 865 *coxiellas* (789=negativas, 53=positivas, 23=dudosas), 939 *mycoplasmas* (255=negativas, 621=positivas, 63=dudosas), 852 *chlamydias* (356=negativas, 441=positivas, 55=dudosas), 753 *legionellas* (752=negativas, 1=dudosa).

En el año 2014 un total de 1012 *coxiellas* (937=negativas, 51=positivas, 24=dudosas) 991 *mycoplasmas* (344=negativas, 557=positivas, 90=dudosas) 968 *chlamydias* (499=negativas, 341=positivas, 128=dudosas) 858 *legionellas* (852=negativas, 5=positivas, 1=dudosa).

Se observa que la neumonía atípica más solicitada es el *mycoplasma* seguido por la *chlamydia*, *coxiella* y *legionella*.

CONCLUSIONES:

Se observa que la neumonía atípica más solicitada es el *mycoplasma* seguido por la *chlamydia*, *coxiella* y *legionella*, hubo un aumento de las

ESPOROTRICOSIS CUTÁNEA

Autor/a/s: GUERRERO CRESPILO ÁNGELA MARÍA, MÁRQUEZ SALAZAR RAFAEL, BARRANCO TORRES RAFAELA

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA

Localidad: MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: aguecres75@gmail.com

RESUMEN:**INTRODUCCIÓN:**

Los campesinos, jardineros, floristas, carpinteros & son las personas más frecuentemente afectadas por inoculación de los conidios a través de traumatismos con materiales vegetales.

La esporotricosis es la micosis subcutánea más diseminada en todo el mundo, afecta preferentemente a cara y extremidades. Se caracteriza por nódulos que siguen en general el trayecto de los vasos linfáticos. La presentación clínica más común es la forma linfangítica seguida de la forma cutánea localizada.

Paciente varón de 65 años, sin antecedentes médicos de interés que acudió a consulta de dermatología por presentar varias lesiones cutáneas de diferente tamaño y evolución localizadas en el dorso de la mano y antebrazo izquierdo. Las lesiones eran de tipo papulonodular eritematosas, indoloras, que seguían el trayecto de la diseminación linfática del miembro superior afectado. La lesión de mayor tamaño (en el dorso de la mano) presentó una ulceración central supurativa. La primera lesión apareció en el dorso de la mano tras la inoculación traumática de una espina recogiendo espárragos. Unas semanas después aparecieron nuevas lesiones en el antebrazo izquierdo que se distribuían de forma lineal y ascendente. No había presentado fiebre ni malestar general. En la exploración física no se observaron otras lesiones ni adenopatías. El resto de la exploración fue normal. Se procedió a realizar una toma de muestra microbiológica de las lesiones y una biopsia de la lesión de mayor tamaño.

OBJETIVOS:

Descripción, aislamiento, identificación y sensibilidad del agente etiológico asociado a una infección humana.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó una toma de muestra microbiológica de las lesiones, se usó para la toma de la muestra y la siembra agar sabouraud, wilkins, sabouraud casero, Dextrosa patata y tinción de azul de Lactofenol, también se realizó una biopsia de la lesión de mayor tamaño. Se precintaron las placas con Parafilm y se incubaron a 30°C y a 37°C durante 21 días.

RESULTADOS:

El estudio micológico de la biopsia cutánea y exudado de la úlcera del dorso de la mano fue positivo a los 3 días, observándose crecimiento de pequeñas colonias lisas, de color crema, similares a una levadura en las placas incubadas a 37°C. Y a partir del 5º día comenzaron también a crecer a 30°C colonias aterciopeladas de color negro en el centro con el borde blanquecino, confirmándose la sospecha diagnóstica de esporotricosis linfangítica. El aspecto macroscópico de las lesiones indicaba varias posibilidades diagnósticas, entre las que destacaban la tuberculosis cutánea, micobacteriosis atípica o esporotricosis linfangítica. En el estudio histopatológico de la biopsia se observaron agregados histiocitarios compatibles con dermatitis aguda inespecífica. El paciente se trató con Itraconazol 200 mg/día durante 6 meses, con mejoría progresiva de todas las lesiones hasta su remisión.

peticiones considerable en el año 2011 y 2014. Analizando las muestras positivas la coxiella burnetii en el año 2012 tuvo su cima con 61 casos positivos, en el mycoplasma y la clamidia (621 y 441 casos positivos respectivamente) en el 2013 y, la legionella fue en el año 2014 con 5 casos positivos. Las prevalencias de: coxiella son del 7,2% en el año 2012. En el mycoplasma y la clamidia es del 66,1% y 51,8% respectivamente en el año 2013. Mientras que la legionella es del 0,58% en el año 2014.

PARASITOSIS INTESTINALES DIAGNOSTICADAS EN EL HOSPITAL DEL BIERZO EN UNA DÉCADA (2004-2014)

Autor/a/s: ALONSO ALVAREZ, VICTORINA, MORALES GARCÍA GEMA, LÓPEZ MEDRANO RAMIRO.

Centro de trabajo: HOSPITAL DEL BIERZO

Localidad: PONFERRADA)

Correo electrónico del primer firmante: vitialonsoalvarez12@gmail.com

RESUMEN:**INTRODUCCIÓN:**

Las parasitosis intestinales son entidades que presentan manifestaciones clínicas muy diversas y que con frecuencia pueden pasar desapercibidas. El Hospital del Bierzo atiende un área de salud de unos 160.000 habitantes y es el único hospital de la red pública en la comarca del Bierzo, por lo que recibe muestras de toda la comarca.

OBJETIVOS:

Analizar el comportamiento de las parasitosis intestinales diagnosticadas en el Hospital del Bierzo a lo largo de una década (2004-2014).

MATERIAL Y MÉTODOS:

Las muestras de heces recibidas se concentraron por la técnica de formol 10%-etilacetato siguiendo el procedimiento de Ritchie modificado. Durante este periodo se introdujo el sistema comercial Midi PARASEP SF (Movaco-Grifols®) en su variante formol 10% y al que se añade 1ml de etilacetato por muestra.

RESULTADOS:

Durante dicho periodo se recibieron un total de 19.037 muestras de heces para diagnóstico parasitológico y se detectaron un total de 367 parásitos intestinales, incluyendo protozoos y gusanos intestinales. La incidencia media de parasitosis intestinal durante este decenio fue del 1.92%. El parásito más frecuente en conjunto ha resultado ser Giardia lamblia (150 casos). En el grupo de los cestodos los más frecuentes fueron Hymenolepis nana (11 casos) seguida de Taenia spp (6 casos). En el grupo de los nemátodos el más frecuente fue Enterobius vermicularis (21 casos) seguido de Ascaris lumbricoides (11 casos).

CONCLUSIONES:

Las parasitosis intestinales en nuestra comarca suponen un reto diagnóstico por su baja incidencia. Se observa una tendencia claramente decreciente de las giardiasis a lo largo de este periodo con un mantenimiento del resto de las parasitosis a bajos niveles de incidencia.

CONCLUSIONES:

La demostración micológica mediante cultivo continúa siendo el patrón de oro en el diagnóstico de la esporotricosis. Es conocido que el diagnóstico histopatológico no es fácil, ya que las estructuras fúngicas, por lo general, están ausentes. El tratamiento de la esporotricosis cutánea consiste en itraconazol 200-400 mg/día durante 3-6 meses; como alternativas, tenemos la clásica solución saturada de yoduro potásico durante 3-6 meses o terbinafina 250-1000 mg/día hasta la remisión de las lesiones.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 057

CASO DE INFECCIÓN POR MENINGOCOCCO GRUPO C

Autor/a/s: GUERRERO CRESPILO ÁNGELA MARÍA, MÁRQUEZ SALAZAR RAFAEL, BARRANCO TORRES RAFAELA.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA

Localidad: MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: aquecres75@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Bacteria, diplococo aerobio gram negativo, las formas clínicas invasoras más frecuentes son: meningitis, bacteriemia y neumonía. La sepsis meningocócica cursa con fiebre elevada de aparición brusca acompañada de exantema purpúrico o petequeal, que puede progresar en pocas horas a púrpura fulminante, hipotensión, insuficiencia suprarrenal aguda, fallo multiorgánico, shock refractario y muerte. Solo afecta a seres humanos ya que no existe ningún reservorio.

Se transmite de persona a persona a través de partículas de las secreciones respiratorias de la garganta. La propagación de la enfermedad se ve facilitada por el contacto estrecho y prolongado (besos, estornudos, tos, dormitorios colectivos, vajillas y cubiertos compartidos) con una persona infectada. Período de incubación medio es de cuatro días, pero puede oscilar entre 2 y 10 días.

Hay personas que son portadoras faríngeas de la bacteria y con una bajada de defensa puede propagarse al cerebro a través del torrente sanguíneo.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recibieron dos tomas de Hemocultivos de paciente procedente de unidad de críticos de urgencias tras llamada de UCI por sospecha de meningococcemia. Se les realizó tinción de gram y pase ciego a los frascos de hemocultivos en placas de Agar sangre, chocolate y MacConkey y medio líquido de enriquecimiento TODD antes de introducirlas en el sistema automatizado BacT/ALERT® 3D. Para la identificación se empleó el kit Pastorex® Meningitis y tarjetas NH del sistema automatizado VITEK® 2 Compact (bioMérieux). Se realizó antibiograma en medio mueller hinton sangre con inóculo 0,5 McFarland estudiando la sensibilidad frente a: penicilina, meropenem, cefotaxima, ciprofloxacino, tetraciclina, rifampicina, cloranfenicol y trimetoprim sulfam.

RESULTADOS:

Tras incubación a 37°C durante 16-24 horas en atmósfera enriquecida con Co2 0,5% se observó crecimiento de colonias pequeñas transparentes con centro opaco, brillantes y de un tono azulado en Agar sangre y chocolate, sin crecimiento en MacConkey. En la tinción de gram se observaron diplococos gram negativos. Estas colonias se identifican por ser oxidasa positiva, Catalasa positiva y fermentación de glucosa y maltosa pero no de sacarosa y fructosa.

CONCLUSIONES:

La Neisseria meningitidis es una de las causas más frecuentes de meningitis bacteriana en el mundo. La evolución rápida de la enfermedad con frecuencia lleva a la muerte a uno o dos días después de su aparición o deja secuelas graves, incluso en los casos de tratamiento médico óptimo. La inmunización con vacunas es el único medio racional de combatir dicha enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 061

DIAGNÓSTICO NO INVASIVO DE HELICOBACTER PYLORI MEDIANTE UN MÉTODO DE ELISA MONOCLONAL

Autor/a/s: Cabrera Benítez, Ana María; Suárez Sánchez, María Teresa; Silva Reyes, Candelaria; Vilar Martín, Ángeles; Marrero Pérez, María del Carmen; Tosco Núñez, Tomás.

Centro de trabajo: Hospital Universitario Insular de Gran Canaria

Localidad: Las Palmas de Gran Canaria

Correo electrónico del primer firmante: acabrerabenitez@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El diagnóstico de Helicobacter pylori (H. pylori) es de gran relevancia por el papel que desempeña este microorganismo en el desarrollo de diversas enfermedades digestivas. Se ha demostrado que existe una prevalencia del 30-50% a nivel mundial. En el último consenso sobre la infección por H. pylori (2013) se recomienda la prueba de antígeno en heces para el diagnóstico no invasivo, como alternativa a la prueba del aliento.

OBJETIVOS:

Estudiar la prevalencia de H. pylori utilizando un método de ELISA monoclonal.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudiaron 4.672 muestras de heces recibidas durante 2014 por el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria procedentes de pacientes ingresados y extrahospitalarios (población pediátrica y adulta).

La detección de antígeno de H. pylori en heces se realizó mediante el kit comercial EDITM Fecal H. pylori Antigen ELISA Kit (Epitope Diagnostics) y para el desarrollo de la técnica se utilizó el sistema automático DS2® (Dynex Technologies).

Este ELISA consiste en una microplaca que contiene 96 pocillos recubiertos con anticuerpos monoclonales anti-H. pylori purificados. Al añadir las heces, una vez realizada la extracción, el antígeno de H. pylori se une a los anticuerpos descritos. A continuación, se añade otro anticuerpo monoclonal unido a peroxidasa de rábano (conjugado-HRP). Tras la incubación, se forma el complejo anticuerpo anti-H. pylori antígeno H. pylori conjugado-HRP. Posteriormente, se realiza el lavado, la adición del sustrato y la lectura espectrofotométrica tras añadir la solución de parada. La actividad enzimática producida entre el conjugado-HRP y el sustrato será proporcional a la cantidad de antígeno de H. pylori unido en las paredes de los pocillos.

Para el correcto funcionamiento del sistema automático DS2® se debe realizar un mantenimiento al iniciar y al finalizar la técnica.

Una vez programadas las muestras en el sistema informático, se introducen las heces, previamente preparadas con diluyente, en un rack en el aparato y los reactivos del kit comercial. En dicho sistema se lleva a cabo el proceso de dispensación y lectura. Tras 150 minutos

se obtienen los resultados que son transmitidos al sistema informático del laboratorio.

RESULTADOS:

El 65,7% (N=3.071) de los pacientes, fueron mujeres con una edad entre 9 meses y 90 años. El 83% (N=3.874) de los pacientes procedían de atención primaria, siendo el resto pacientes hospitalizados, de atención especializada o prisión.

El 31.1% de las muestras (N=1.454) fueron positivas para la detección de antígeno de *H. pylori* mientras que el 68.6% (N=3.205) resultaron negativas. En 13 muestras (0.3%) se obtuvo un resultado con límite de positividad y se recomendó el envío de nueva muestra.

CONCLUSIONES:

La prevalencia de *H. pylori* fue del 31,1%, lo que es normal en países desarrollados.

El ELISA, además de ser sencillo y rápido, puede utilizarse tanto para el diagnóstico de *H. pylori* como para su seguimiento tras un tratamiento erradicador.

El analizador automático DS2® simplifica el trabajo técnico, con un mínimo mantenimiento, y permite analizar un gran número de muestras de forma rápida y segura, realizando además la transmisión automática de los resultados.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 066

GENOTIPADO HEPATITIS C

Autor/a/s: Verónica Gonzalo Abril, María Zapica, Cristina Rodríguez Rubio, Alicia Capón Lopez, Jordi Vila Estapé, Josep Costa Camps

Centro de trabajo: Hospital Clínic Barcelona

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: nikalus81@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es la causa principal de hepatitis crónica, cirrosis hepática y cáncer de hígado en el mundo. Se han descrito 7 genotipos distintos del VHC y numerosos subtipos. La determinación del genotipo es fundamental para el tratamiento de los pacientes porque constituye el principal factor pronóstico de la respuesta a los antivirales y de ello depende la pauta terapéutica y la duración del tratamiento. El genotipado del virus se puede llevar a cabo por diversos procedimientos, sin embargo se han observado discrepancias importantes entre los diferentes métodos. La región del genoma más empleada para la determinación del genotipo es la 5' No Codificante (5' NC), la más conservada del virus. Sin embargo se ha comprobado que el análisis de esta región no permite clasificar con precisión los diferentes subtipos. Por otra parte el análisis de la región NS5b del genoma es mucho más fiable, pero al ser una región más variable, su sensibilidad es menor y en un número no bien establecido de casos el genotipo no se puede identificar.

OBJETIVOS:

Comparar 3 métodos moleculares para la determinación del genotipo del VHC: Los dos primeros basados en el análisis de la región 5' NC y el tercero de la región NS5b.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se analizaron por los tres métodos 100 muestras de suero consecutivas de pacientes con RNA-VHC detectable enviadas al laboratorio de

Microbiología para la determinación del genotipo. El primer método para la determinación del genotipo consiste en la amplificación de la región 5' NC por RT-PCR, digestión del material amplificado con enzimas de restricción (Mva1, Bsh12361 y Mbo1) y posterior análisis de la longitud de los fragmentos de restricción mediante electroforesis en agarosa al 2% (RT-PCR-RFLP). El segundo método se basa en la amplificación de la misma región, seguido de secuenciación y análisis filogenético. El tercer método consiste en la amplificación y secuenciación de la región NS5b y análisis filogenético. La reacción de secuenciación se llevó a cabo mediante el método de Sanger utilizando Big Day Terminator v1.3, tras purificación de los fragmentos amplificados mediante ExoStar (GE Healthcare). La lectura de las secuencias se efectuó en la Unidad de DNA del Hospital Clínic. Las secuencias se analizaron con el programa MEGA 5.05 y se identificaron con la base de datos de Genotyping.

RESULTADOS:

Se observó una concordancia del 98% entre los tres métodos en el tiraje de las muestras, pero solo el 90% coincidía en el subtipaje. El método de RFLP identificó erróneamente el genotipo en 1 % de las muestras. Se observaron discrepancias entre los subtipos 1a y 1b en el 8 % de las muestras entre las regiones 5' NC y NS5b. En un caso apareció un posible virus recombinante. Todas las muestras pudieron ser tipadas mediante el análisis de la región NS5b.

CONCLUSIONES:

El método de RFLP no debe ser usado en la práctica clínica porque identifica erróneamente el genotipo del VHC en algunos casos. El método basado en el análisis de la región NS5b es sensible y es el más adecuado para tipar y subtipar los genotipos del VHC.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 069

EVALUACION DE CONDICIONES DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS CADAVERICAS: HEMOCULTIVOS Y BIOPSIAS DE TEJIDOS PARA PCR.

Autor/a/s: CRISTINA RODRIGUEZ RUBIO, JORDI VILA, VERONICA GONZALO ABRIL Y MIKEL MARTINEZ YOLDI

Centro de trabajo: HOSPITAL CLINIC BARCELONA/INSTITUTO DE SALUD GLOBAL DE BARCELONA

Localidad: BARCELONA

Correo electrónico del primer firmante: cristinarr88@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El diagnóstico microbiológico post-mortem en países de baja renta presenta limitaciones importantes, incluyendo la dificultad del transporte y procesamiento de las muestras. En el marco de un estudio encaminado a determinar las causas de muerte infecciosa en Mozambique, se plantea la necesidad de optimizar algunos de los procesos de laboratorio.

OBJETIVOS:

- 1- Comparar el rendimiento del hemocultivo en función de diferentes condiciones de almacenamiento de los frascos de hemocultivo
- 2- Comparar el rendimiento de dos plataformas de extracción de ácidos nucleicos para muestras de tejidos.

MÉTODOS:

- 1-Se inocularon frascos de hemocultivo con las siguientes especies

bacterianas: *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus agalactiae*, *Neisseria meningitidis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella* spp. Se comparó la tasa de recuperación y el tiempo de positividad del hemocultivo según si los frascos fueron introducidos inmediatamente en el sistema Bactec, fueron mantenidos 24h a 4°C o fueron mantenidos 24h a temperatura ambiente (TA) antes de introducirlos en el sistema. Se realizaron entre 1 y 5 ensayos independientes para cada especie bacteriana.

2-Se comparó el rendimiento de la extracción de ácidos nucleicos a partir de una serie de biopsias de diferentes tejidos en las plataformas QIAcube y EZ1. Para ello se utilizaron muestras de bazo e hígado tanto directamente como en biopsias fijadas con formol y preservadas en parafina. Se comparó tanto la cantidad de ácidos nucleicos obtenidos como la pureza de los mismos. A fin de simular tejidos infectados, un subgrupo de biopsias se mezcló con muestras positivas para virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 para comparar posteriormente el rendimiento de una PCR diagnóstica en dichas muestras.

RESULTADOS:

1- Se diferenciaron dos grupos de patógenos en los cuales los resultados obtenidos fueron similares entre ellos. Grupo 1: *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *K. pneumoniae* y *Salmonella* spp. Grupo 2: *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*. Los microorganismos del grupo 1 crecieron significativamente a TA. Los resultados cuando se incubaron a 4°C fueron comparables a los obtenidos introduciendo el frasco directamente en el BACTEC. Los microorganismos del grupo 2 vieron afectado su crecimiento de manera importante tanto cuando el frasco se mantuvo a TA como cuando se mantuvo a 4°C.

2-La cantidad de ácidos nucleicos extraídos, así como la calidad de los mismos, es superior cuando se utiliza el protocolo con la plataforma QIAcube. Igualmente, se detectaron menos inhibidores en el extracto de ácidos nucleicos obtenido con la plataforma QIAcube.

CONCLUSIONES:

Para una óptima recuperación de microorganismos en el hemocultivo, es preferible introducir inmediatamente los frascos de hemocultivo en el sistema Bactec. Sin embargo, si no es factible un transporte inmediato al laboratorio, los frascos pueden mantenerse hasta 24h a 4°C. En estas condiciones, se consigue una recuperación eficiente para la mayoría de microorganismos relevantes, aunque se debe tener en cuenta que el rendimiento será menor para algunos patógenos más lábiles. No es aconsejable mantener las muestras durante 24h a temperatura ambiente.

En cuanto a la extracción de ácidos nucleicos para pruebas moleculares de PCR, en nuestras condiciones la plataforma QIAcube muestra mejores resultados que el sistema EZ1.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 076

POLIMORFISMO Q80K EN HEPATITIS C GENOTIPO 1A EN EL AREA DE A CORUÑA

Autor/a/s: María José Muíño Andrade. María Luisa Fafián Ares

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario A Coruña (CHUAC)

Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: ramalleiran25@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los avances terapéuticos en los últimos años han sido espectaculares y permiten curar la hepatitis C en la gran mayoría de los casos, alcanzando tasas de curación del 95%. Las nuevas alternativas terapéuticas, como agentes antivirales de segunda generación, entre los que se encuentran SIMEPREVIR mejora notablemente la probabilidad de curar con mínimos efectos adversos. La tendencia se dirige al uso de tratamientos orales cortos en el tiempo y con ausencia de efectos secundarios. En España, el genotipo 1 del virus de la hepatitis C es el más prevalente, representa el 70% de los casos. Los nuevos medicamentos han demostrado ser eficaces para curar estos pacientes. La eficacia de los antivirales (AAD) parece depender del genotipo y del subtipo del VHC, puesto que la presencia de polimorfismos genéticos naturales en la proteasa NS3 puede comprometer la actividad de estos antivirales. Por tanto, es importante conocer la prevalencia de estos polimorfismos asociados a resistencias a los AAD en diferentes genotipos/subtipos del VHC en pacientes con hepatitis crónica C.

OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de los polimorfismos Q80K del genotipo 1 subtipo a del VHC, así como las unidades peticionarias más demandantes en el área sanitaria de A Coruña, en el periodo 2014-2015.

MATERIAL Y MÉTODOS:

MagNA pure compact (Roche) } Extracción del VHC

GeneAmp. PCR System 9700 } Genotipado amplificación VHC

Autoblot 3000 H medTec } Genotipado detección VHC

HCV Genotype 2.0 Assay LIPA (Siemens)

Polimorfismo Q80K es enviado a un centro externo (Instituto Carlos III). Diagnóstico por ensayo Sanger.

RESULTADOS:

El criterio de selección para el estudio fue seleccionar pacientes confirmados como positivos para el genotipo 1 de la infección crónica del VHC en el periodo 2014-2015. Determinándose en dicho periodo 263 genotipos.

GENOTIPO VIRUS HEPATITIS C								
PERIODOS	GENOTIPO	SUBTIPOS		POLIMORFISMO Q80K(1a)				
	1	a	b	Presencia	Ausencia	No determinado	Monoinfectados	Coinfección VIH/VHC
MAYO-DICIEMBRE 2014	172	98	74	1	15	3	18	1
ENERO-FEBRERO 2015	91	53	38	1	6	-	32	14
TOTAL	263	151	112	2	21	3	50	15

CONCLUSIONES:

La gran variabilidad genética de VHC puede favorecer la presencia de polimorfismos naturales asociados con resistencias a los AAD que de forma basal podrían comprometer la eficacia antiviral se estos fármacos. Por ello, la gran importancia de realizar un estudio de resistencias antes de iniciar la terapia antirretroviral. Los resultados del mismo permiten seleccionar el tratamiento más óptimo que asegure el éxito terapéutico.

Las infecciones más frecuentes son causadas por el genotipo 1 subtipo a. El polimorfismo Q80K está presente en dos pacientes. La mayoría de los pacientes son monoinfectados (77%), el resto presenta coinfección VIH/VHC (23%). Las unidades peticionarias más demandadas son las de medicina interna seguida de digestivo y penitenciario.

PREVALENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN EL AREA DE A CORUÑA

Autor/a/s: María José Muíño Andrade, María Luisa Fafián Ares

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

Localidad: A Coruña

Correo electrónico del primer firmante: ramalleiran25@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El virus del papiloma humano (VPH) representa una de las infecciones de transmisión sexual más común, conociéndose más de 100 tipos virales que, en relación a su patogenia oncológica, se clasifican en tipos de alto y de bajo riesgo oncológico. La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) considera que los tipos de VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 son carcinógenos para los humanos tipos de alto riesgo oncológico- y que otros tipos, incluidos el VPH 6 y el VPH 11, son posibles carcinógenos para los humanos tipos de bajo riesgo oncológico-.

Aproximadamente el 70% de los casos de cáncer de cuello de útero en el mundo son producidos por los tipos de VPH 16 o 18. Los genotipos de bajo riesgo, VPH 6 y 11 producen un elevado porcentaje de displasias cervicales leves y más del 90% de las verrugas genitales o condilomas. Generalmente las infecciones por VPH ceden espontáneamente en un plazo máximo de dos años, pero pueden persistir y producir lesiones precancerosas de cuello uterino que si no se tratan pueden evolucionar en 20-30 años a un cáncer cervical. Por ello, la detección precoz mediante cribados sistemáticos representa una estrategia de prevención muy eficiente para prevenir la presencia de cáncer cervical.

OBJETIVOS:

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de los diferentes genotipos del VPH, así como las unidades peticionarias más demandantes en el área sanitaria de A Coruña, en el período 2013-2014.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La citología líquida, fue el sistema de recolección, en la toma de muestra del cepillado endocervical procedentes de la consulta de ginecología, enviadas al servicio de anatomía patológica donde realizan la tinción de Papanicolau visualizando la correspondiente citología y detectando los pacientes que presentan lesiones citológicas o histológicas malignas o premalignas. El método de cribado para la detección VPH en las muestras de citología líquida se realiza mediante PCR a tiempo real con el equipo Cobas 4800 (Roche). Este equipo consta de dos módulos:

Cobas X 480 (Roche) } Extracción del VPH

Cobas Z 480 (Roche) } Amplificación- Detección del VPH

cobas® 4800 HPV Test : El kit incluye como control interno la propia b-globina humana que se encuentra en todas las células. Este test permite la detección simultánea y por separado de VPH-16/18 y AR.

RESULTADOS:

VIRUS PAPILOMA HUMANO (VPH)										
AÑOS	TOTAL	NEGA-TIVOS	POSI-TIVOS	POSITIVOS			INFECCIONES MIXTAS			
				VPH-16	VPH-18	VPH-AR	16/AR	18/AR	16/18	16/18/AR
2013	768	457	311	105	21	247	45	3	4	3

2014	1.203	716	487	151	29	360	58	6	4	7
TOTAL	1.971	1.173	798	256	50	607	103	9	8	10

CONCLUSIONES:

La infección VPH es la enfermedad de transmisión sexual más común, y la persistencia de esta es el principal agente causal de cáncer de cérvix. En el año 2014 hay un aumento del número de muestra pero la prevalencia de VPH positivos en 2014 se mantiene con respecto al 2013 suponiendo un 40.5%. Las infecciones mixtas del año 2014 aumentaron con respecto al 2013 los genotipos 18/AR (0.1%) y 16/18/AR (0.2%) las otras disminuyeron un 1% y 0.2% respectivamente. El genotipo de alto riesgo es el más prevalente (0.29%) seguido de 16 (0.12%) y 18 (0.02%). Las coinfecciones más frecuentes son las del genotipo 16/AR (5%). Las unidades más demandantes en nuestra área son el servicio de anatomía patológica y el centro de orientación familiar (COF).

DISTRIBUCIÓN DE UROPATÓGENOS EN ORINAS OBTENIDAS POR DISTINTOS MÉTODOS DE RECOGIDA

Autor/a/s: SAMPEDRO DE LA TORRE, INMACULADA CONCEPCIÓN; LIÉBANA MARTOS, MARIA DEL CARMEN; VALERA ARCAS, MARIA DOLORES; GUTIÉRREZ FERNÁNDEZ, JOSÉ

Centro de trabajo: COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE GRANADA

Localidad: GRANADA

Correo electrónico del primer firmante: inmasamp@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La infección urinaria (IU) sigue siendo una de las entidades infecciosas más frecuentes en nuestro medio y su diagnóstico microbiológico uno de los estudios que se realizan con más frecuencia en los laboratorios de microbiología. El término IU engloba una serie de entidades distintas, por lo que para su diagnóstico debe tenerse en cuenta no solamente el tipo de entidad, sino también el método de recogida de la orina empleado. Determinados patógenos urinarios pueden estar relacionados con distintas afecciones del tracto urinario o con determinada población.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio ha sido analizar la distribución de los distintos aislados encontrados en muestras de orina de distintos orígenes y poblaciones en nuestro medio.

MÉTODO:

Se realizó un estudio observacional retrospectivo a través del análisis de los datos de orinas recibidas en el Laboratorio del Servicio de Microbiología (LSM) del Hospital Virgen de las Nieves durante el año 2014, recogidos en el SIL (Sistema informático del Laboratorio).

RESULTADOS:

Durante el año 2014 se recibieron 28.309 muestras de orina, de las cuales en 6.815 tuvieron un cultivo positivo (24.07%). De ellas un 72.86% correspondieron a orinas obtenidas por micción limpia; 2.68% obtenidas mediante bolsa colectora; 6.88% procedían de gestantes; 0.16% fueron orinas de estudio de prostatitis; 0.92% correspondían a semen incluido dentro del estudio de prostatitis; 0.88% procedían de una nefrostomía y 16,22% fueron obtenidas de sondaje.

Se aislaron 48 microorganismos distintos, de los que 12 se identificaron en el 96,27% del total de las muestras estudiadas. Entre ellos destacan *Escherichia coli* aislado en 3.544 muestras (52%) y *Enterococcus faecalis* aislado en 1.227 muestras (16,53%). Ambos se identificaron principalmente en orina de micción limpia. Entre los aislados destacan los microorganismos gram negativos que suponen el 76,9% de todos los uropatógenos. Entre los patógenos menos frecuentes es destacable el papel de microorganismos como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Serratia marcescens* asociados a sondaje. Por grupos de población es destacable también el papel de *Streptococcus agalactiae* en las embarazadas con 91 aislamientos y el semen de sospecha de prostatitis con 4 aislados. En cuanto a los microorganismos con especiales perfiles de resistencia como los productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) o *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina su distribución en los distintos tipos de orina no difiere del que presentan los aislados con fenotipo salvaje, siendo más frecuente su aislamiento en orina de micción media. En cuanto a otros microorganismos que presentan un perfil de mayor resistencia frente a antimicrobianos como *Stenotrophomonas maltophilia* o *Enterococcus faecium* a pesar de que se aíslan principalmente en orina de micción limpia, también tienen una presencia importante en las orinas de sondaje.

CONCLUSIONES:

Los microorganismos más frecuentemente aislados en orina son *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*, siendo el origen en el que más comúnmente se aíslan microorganismos uropatógenos la orina de micción limpia. Los microorganismos más asociados a IU relacionada con sondaje son los bacilos gram negativos no fermentadores.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 088

INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO DEL GEN IL28B EN LA CRONICIDAD DE LA INFECCIÓN DEL VHC. ESTUDIO DE 584 PACIENTES.

Autor/a/s: Susana Mocholí Moreno, Rosa Jiménez Esteve, Mari Carmen Rodríguez López, Juan Córdoba Cortijo, José Miguel Molina Moreno, María Dolores Laforet Rodríguez, José Luis López Hontangas

Centro de trabajo: Hospital La Fe

Localidad: (VALENCIA)

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) localizados en los genes que codifican para la familia del IFN-lambda (cromosoma 19 (19q13)), se han asociado con la eliminación espontánea del virus de la hepatitis C (VHC) y con la respuesta al tratamiento del VHC. El gen IL28B codifica la interleucina 28, y es conocido como interferón (IFN) lambda tipo III (IFN-lambda-3). La IL28B es un mensajero químico de las reacciones inmunológicas que presenta actividad antiviral (citocina relacionada al IFN-alfa). Los SNPs con una asociación más fuerte se detectaron cerca del gen IL28B, concretamente rs12979860 y rs8099917. Los individuos con dos copias del alelo C (genotipo CC) para el SNP rs12979860 son más propensos a responder al tratamiento, que los individuos TT. También el alelo C es más frecuente en pacientes en los que la infección por el VHC se resuelve espontáneamente. **Objetivos:** Determinar la relación entre los polimorfismos IL28B del genoma humano y las características virológicas de 584 pacientes infectados por VHC.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se han estudiado muestras de sangre total y plasma de 584 pacientes de los cuales 442 presentaron una hepatitis crónica C (HCC), 42 una coinfección VHC-VIH y 100 con trasplante por VHC (THO). Todas las muestras fueron coleccionadas en ausencia de cualquier tratamiento frente al VHC.

En todos los pacientes, se han estudiado los datos demográficos, genéticos (IL28B, rs12979860) y virológicos (carga viral y genotipo del VHC). Para la determinación del polimorfismo IL28B (rs12979860) se utilizó el LightMix Kit IL28B de Molbiol, para la carga viral el Versant HCV RNA 3.0 Assay de Siemens y para el genotipo viral el HCV Versant Genotype 2.0 Assay de Siemens. Los estudios estadísticos se realizaron con el paquete SPSS software.

RESULTADOS:

No se encontraron diferencias significativas cuando comparamos el sexo, la distribución de los polimorfismos IL28B (C/C, C/T, T/T) y el genotipo VHC de los pacientes.

Tampoco encontramos diferencias cuando comparamos los polimorfismos IL28B y el diagnóstico clínico de los pacientes (HCC, THO y VHC-VIH) o la carga viral de los mismos. Por el contrario, encontramos diferencias significativas en una mayor carga viral del genotipo 1 con respecto al resto.

Cuando comparamos los polimorfismos IL28B con los distintos genotipos VHC, encontramos diferencias significativas en los pacientes con genotipo 3 (C/C:10% vs C/T:2 3%, T/T:2%) y genotipo 4 (C/C:5% vs C/T:5 5%, T/T:9 1%)

CONCLUSIONES:

Los polimorfismos IL28B en los pacientes infectados con VHC genotipo 1 no parecen influir en la cronicidad de la infección.

Los polimorfismos IL28B C/T y T/T para los pacientes infectados con VHC genotipo 3 parecen menos susceptibles a desarrollar una infección crónica VHC.

Los polimorfismos IL28B C/C y C/T para los pacientes infectados con VHC genotipo 4 parecen menos susceptibles a desarrollar una infección crónica VHC.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 089

INFECCIÓN POR TSUKAMURELLASPP: DESCRIPCIÓN DE UN CASO EN PACIENTE INMUNOCOMPETENTE

Autor/a/s: Susana Mocholí Moreno, Ascensión Hernández Martínez, Marina Daud Picó, Patricia Falomir, Ana Gil, María Dolores Laforet Rodríguez, José Luis López Hontangas.

Centro de trabajo: Hospital la Fe

Localidad: Valencia

Correo electrónico del primer firmante: susanamocholi@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El género *Tsukamurellaspp.* incluye bacilos grampositivos, parcialmente ácido-alcohol resistentes (AAR), inmóviles y aerobios, englobados en el orden Actinomycetales, suborden Corynebacterineae. Se consideran microorganismos ambientales, pero también han sido descritos como causa excepcional de infecciones asociadas a dispositivos vasculares, oftálmicas y pulmonares, principalmente en pacientes inmunodeprimidos.

Presentamos el caso de una infección pulmonar por *Tsukamurellaspp.* en un paciente inmunocompetente.

OBJETIVO:

Alertar sobre las dificultades del diagnóstico de infección por actinomicetales poco frecuentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Revisión y seguimiento del proceso asistencial del paciente caso.

Diagnóstico microbiológico: cultivo de esputo siguiendo los procedimientos de la SEIMC, estudio de sensibilidad por microdilución (Sensititre RAPMYCO, TrekDiagnostics) e identificación mediante secuenciación del gen 23S

rRNA (kit ThermoSequenaseDye)

RESULTADOS:

En el seguimiento de cultivos de esputo de un paciente con bronquiectasias sobreinfectadas por *Pseudomonasaeruginosa*, se aísla en la placa de VCN una colonia rugosa tras

48 horas de incubación a 37°C en ambiente de microaerofilia. En la tinción de Ziehl-Neelsen se observan bacilos rectos parcialmente AAR de morfología similar a micobacterias de crecimiento rápido (MCR). En el análisis de pruebas bioquímicas, presenta nitratos débilmente positivos, citrato negativo y crecimiento en medio de Löwenstein con NaCl. Es sensible in vitro a amikacina, ciprofloxacino, cotrimoxazol, imipenem, linezolid y moxifloxacino y resistente a amoxicilina-clavulánico, ampicilina, cefoxitina, claritromicina y tobramicina (puntos de corte según CLSI para MCR). Para su identificación se realiza una técnica de hibridación de sondas (HAIN Lifescience), en la que se detectan las bandas de alto contenido en GC sin banda de control de *Mycobacteriumsp.*

Se realiza entonces la secuenciación del gen 23S rRNA, y se identifica como *Tsukamurellaspp.* Para valorar su significación clínica, se procesa una nueva muestra, en la que se vuelve a aislar el microorganismo y se valora la patología del paciente, que presentaba la clínica habitual de bronquiectasias. Se decide añadir rifabutina y levofloxacino a su tratamiento habitual. Tras 3 meses de tratamiento, el paciente presenta menor expectoración, aunque la imagen radiológica (TC) es similar a la inicial. Los cultivos microbiológicos se mantienen negativos.

CONCLUSIONES:

Existe la suficiente evidencia clínica para afirmar que la *Tsukamurellaspp.* es un agente etiológico raro de infecciones en distintas localizaciones. Por lo tanto, a pesar de que se han descrito casos de contaminación y colonización, su aislamiento en muestras clínicas debe ser estudiado debidamente. Cabe cuestionarse la prevalencia de las infecciones por este microorganismo, ya que debido a sus problemas de identificación y la velocidad de crecimiento, es probable que estén infradiagnosticadas. Para la correcta identificación de *Tsukamurellaspp.* son necesarios los métodos moleculares. En nuestro Servicio, la reciente incorporación de la secuenciación del gen 23S rRNA ha permitido la identificación de este actinomicetal.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO DE VALME

Localidad: SEVILLA

Correo electrónico del primer firmante: celestinasierra@hotmail.com

INTRODUCCIÓN:

El linfogranuloma venéreo (LGV) es una infección bacteriana de transmisión sexual (ITS) causada por las serovariedades L1, L2, o L3 de *Chlamydia trachomatis*. Esta enfermedad hasta hace poco era endémica en países tropicales pero a partir del 2003 comenzaron a detectarse casos en Europa. El LGV es más común en hombres que practican sexo con hombres (HSH) que en mujeres y el principal factor de riesgo es ser VIH positivo y mantener prácticas sexuales de riesgo. En España se han detectado brotes en Barcelona y Madrid entre 2009 y 2011. Es importante su detección debido a la relevancia clínica y epidemiológica, ya que la duración del tratamiento cambia de 1 a 3 semanas, aumentando las posibilidades de transmisión y así evitar mayores complicaciones.

OBJETIVO:

Detección molecular del brote de LGV.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Desde el 1/1/2014 a 31/12/2014 se han analizado 4.305 muestras remitidas desde el Centro de Infecciones de Transmisión Sexual de Sevilla (CITS) y del Servicio Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (Hospital Universitario Virgen del Rocío) para la detección de *C. trachomatis* (CT) y *N. gonorrhoeae* (NG) por PCR a tiempo real con el equipo cobas 4800, compuestas por: 45.4% orinas, 31.8% exudados cervicales, 17.5% exudados rectales y un 5.3% exudados faríngeos. La población de estudio fue mayoritariamente varones (63.1%) con mediana de edad de 30 años. El principal motivo de la petición fue estudio de control (82%).

Se obtuvieron un total de 449 (10.4%) muestras positivas para CT [el 17.8% eran además positivas para NG], a las cuales se les realizó PCR a tiempo real (Rodríguez-Domínguez et al 2013, CMI) en el equipo LightCycler 480 para la detección de LGV. Estas muestras incluían 197 (44.0%) orinas, 141 (31.5%) exudados cervicales, 94 (21.0%) exudados rectales y 16 (3.5%) exudados faríngeos que correspondían mayoritariamente a varones (64.7%) con mediana de edad de 29 años. La consulta de estos pacientes era en su mayoría por control (53.8%) y síntomas (26.1%).

El genotipado, mediante secuenciación del gen *ompA*, de muestras positivas para LGV se realizó según protocolo descrito en Lysén et al 2004, JCM.

RESULTADOS:

De todas las muestras analizadas, 10 resultaron positivas para LGV. Eran exudados rectales de pacientes varones homosexuales, VIH positivos con edades comprendidas entre 29 y 32 años, sintomáticos y con sospecha de linfogranuloma venéreo.

La secuenciación del gen *ompA* ha permitido la identificación de secuencias idénticas a variedades L2b de LGV.

La prevalencia de LGV dentro de las muestras positivas para clamidias fue del 2.23% y del 0.23% en la población total de estudio. Si solo consideramos los exudados rectales positivos para CT, la prevalencia de LGV en nuestra población asciende al 10.63%. Entre pacientes varones la prevalencia de LGV fue de 3.45%.

CONCLUSIONES:

Aunque nuestra prevalencia de LGV es inferior a otros estudios nacionales, es importante continuar con su detección en todos los casos positivos para clamidias para evitar su diseminación en la población de riesgo.

La variedad de LGV circulante (L2b) en nuestra zona es idéntica a la de otros brotes descritos en España y Europa.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 091

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y EPIDEMIOLÓGICA DE UN BROTE DE LINFOGRANULOMA VENÉREO EN LA PROVINCIA DE SEVILLA DURANTE EL AÑO 2014

Autor/a/s: SIERRA ATIENZA, CELESTINA; LOPEZ SANCHEZ, MANUEL; -CORRALES GARCIA, ARACELI; PARRA-SANCHEZ, MANUEL; GARCIA-REY, SILVIA; SIVIANES VALDECANTOS, NIEVES; BERNAL MARTINEZ, SAMUEL; PALOMARES, JOSE CARLOS; MARTIN-MAZUELOS, ESTRELLA.

ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MALDI-TOF) APLICADA A LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA EN EL ÁMBITO DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Autor/a/s: Covadonga Martínez, M^a Antonia Pérez, M^a Pilar Miguel

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Burgos

Localidad: Burgos

Correo electrónico del primer firmante: corubu69@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El diagnóstico microbiológico convencional sigue siendo lento y además complicado para algunas especies bacterianas. La aplicación de una técnica basada en la espectrometría de masas ha supuesto un gran avance que aporta rapidez y fiabilidad en la identificación bacteriana.

OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo es la validación de la técnica, basada en la espectrometría de masas, Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight (MALDI-TOF), así como establecer su utilidad como método de identificación bacteriana en nuestro laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Entre noviembre de 2012 y septiembre de 2013 se analizaron 765 cepas bacterianas que se identificaron mediante dos metodologías: la convencional y el Vitek MS® (BioMérieux)(MALDI-TOF). Para la convencional se utilizaron: MicroScan® (Siemens), Vitek 2® (BioMérieux), galería Api® (BioMérieux) además de otras técnicas rápidas. Se consideraron porcentajes de identificación válidos aquellos que superaron los siguientes valores de identificación: para MicroScan® un 95%, Vitek 2®: 93% y para la técnica de Api un 90% con un índice de tipicidad superior a 0,75. En el caso del Vitek MS® el punto de corte se estableció en un porcentaje de identificación superior al 80%. Se calculó el índice de concordancia kappa a nivel de género y a nivel de género y especie entre la identificación obtenida por la metodología convencional y la obtenida por el Vitek MS®. Los datos se recogieron en una base de datos diseñada para este fin en Excel (Microsoft Office) y fueron exportados y analizados con el Software estadístico IBM SPSS Statistics 19. Resultados: De las 765 cepas estudiadas, 23,1% eran bacilos gramnegativos fermentadores, 13,2% bacilos gramnegativos no fermentadores, 8,5% cocobacilos gramnegativos no incluidos en los grupos anteriores, 21,6% cocos grampositivos (estafilococo, enterococo), 14% estreptococos, 13,3% anaerobios y un 6,27% bacilos grampositivos. El 84,6% de las cepas alcanzaron porcentajes válidos en la identificación convencional mientras que en la identificación por Vitek MS® fue un 95,2%. Los índices de concordancia alcanzados para cada grupo fueron: ver tabla 1.

Tabla 1: Índice kappa para cada grupo.

	Género	Género y especie
Bacilos gramnegativos fermentadores	1	0,959
Bacilos gramnegativos no fermentadores	0,984	0,871
Cocobacilos gramnegativos	1	0,694
Cocos grampositivos (estafilococo, enterococo)	1	0,992
Estreptococos	1	0,942
Anaerobios	0,968	0,790
Bacilos grampositivos	0,884	0,506

CONCLUSIONES:

Las concordancias obtenidas muestran que la espectrometría de masas es una técnica fiable y válida para la identificación de la mayoría de grupos bacterianos. Además de esto es un método rápido que permite el procesamiento de un número elevado de muestras a la vez (48 pocillos). No requiere un procesamiento previo de la muestra y se necesita poco inóculo. Entre las limitaciones observadas con esta técnica están la importancia de realizar una adecuada dispensación y que determinadas características macroscópicas de algunas colonias bacterianas dificultan una adecuada dispensación y homogeneización de la muestra.

TÉCNICAS RÁPIDAS PARA LA DETECCIÓN DE ESTREPTOCOCOS/ENTEROCOCOS EN SANGRE

Autor/a/s: M^a Antonia Pérez, Rosario Manjón, Covadonga Martínez

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Burgos

Localidad: Burgos

Correo electrónico del primer firmante: marianperhor@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La presencia de microorganismos en sangre es una complicación grave de un cuadro infeccioso. La rápida identificación del microorganismo causante de la infección es importante para orientar sobre el foco de la infección e instaurar un tratamiento adecuado y precoz.

OBJETIVOS:

El objetivo de este trabajo fue la evaluación de 3 técnicas de detección de antígeno como complemento de un diagnóstico precoz en las bacteriemias causadas por estreptococos del grupo A, B, D y Streptococcus pneumoniae.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Entre junio de 2011 y enero de 2015 se estudiaron 217 frascos de hemocultivos positivos. De cada frasco y previa visualización en la tinción de Gram de Cocos Gram (+) en cadenas, se realizó la técnica de inmunocromatografía BinaxNow® (Inverness Medical), y las técnicas de aglutinación Slidex Pneumo-kit® (bioMérieux) y Streptococcal Grouping Kit® (Oxoid). Paralelamente se continuó el protocolo diagnóstico que se aplica en la rutina asistencial en los hemocultivos positivos. Los resultados de las pruebas rápidas se recogieron en una tabla excel así como el resultado posterior del cultivo que se consideró el gold standard. Para las técnicas rápidas de neumococo y para los grupos A, B y D se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos.

RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se identificaron: 33 cepas de S. pneumoniae, 77 Enterococcus spp, 14 S. agalactiae, 10 S. pyogenes, 13 S. bovis, 25 S. mitis/oralis, 10 S. dysgalactiae, 10 estreptococos del grupo anginosus, 4 cepas del grupo S. salivarius, 8 del grupo S. sanguinis, 11 cepas de S. viridans, 1 cepa de Gemella spp y en un caso no se recuperó el microorganismo. Los valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos fueron los siguientes: la aglutinación del grupo A y B obtuvieron una sensibilidad del 100% y una especificidad superior al 95%. Mientras el valor predictivo negativo fue del 100% en ambos casos, el valor predictivo positivo para el grupo A fue del 90,5% y para la aglutinación del grupo B fue

del 60,8%. El grupo D (*Enterococcus* y *Streptococcus bovis*) obtuvo un valor de sensibilidad inferior al 50% con una especificidad del 96,8%. Los valores predictivos positivos y negativos fueron respectivamente 91,1% y 72,2%. La detección de *S. pneumoniae* mediante la técnica BinaxNow® alcanzó una sensibilidad del 100% y una especificidad inferior al 90%. El valor predictivo positivo fue bajo (61,8%) mientras que el negativo fue del 100%. En el caso del Slidex Pneumokit® la sensibilidad fue del 91,2% con un 98% de especificidad y unos valores predictivos positivos y negativos superiores al 94%.

CONCLUSIONES:

Todas las técnicas, excepto la aglutinación D permiten descartar la presencia de los microorganismos estudiados dada su alta especificidad y alto valor predictivo negativo. La aglutinación A del Streptococcal Grouping Kit® y el Slidex Pneumokit® son técnicas que permiten informar de manera presuntiva y precoz de la presencia de *S. pyogenes* y *S. pneumoniae* permitiendo por tanto, orientar el tratamiento más adecuado, mientras se obtiene el resultado definitivo debido a los buenos valores de sensibilidad y de valor predictivo positivo obtenidos. Además de esto son técnicas sencillas, rápidas y de bajo coste.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 094

ESTACIONALIDAD DEL VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL EN PACIENTES PEDIÁTRICOS ATENDIDOS EN UN HOSPITAL DEL ÁREA SANITARIA SUR DE SEVILLA DURANTE LOS AÑOS 2013-2014

Autor/a/s: López Sánchez Manuel, Sierra Atienza Celestina, Izcar Caro Leonardo Jesús, Sánchez Naranjo Ana, Delgado Fenoll María, Martín Mazuelos Estrella y Vargas Romero Julio.

Centro de trabajo: Hospital Universitario de Valme Localidad: Sevilla
Correo electrónico del primer firmante: mlsrae@hotmail.com

INTRODUCCIÓN:

El virus respiratorio sincital (VRS) es una de las principales causas de infecciones respiratorias pudiendo afectar a pacientes de todas las edades. Representa la causa más frecuente de infecciones respiratorias graves, bronquiolitis y neumonías, en lactantes y niños menores de 2 años, siendo en ocasiones causa de ingreso hospitalario. Sin embargo la infección en niños de más edad y adultos no inmunocomprometidos suele ser leve y por lo general autolimitada.

OBJETIVOS:

Describir la tendencia y estacionalidad de las infecciones por VRS en pacientes pediátricos ingresados o atendidos en urgencias del Hospital Universitario de Valme (Sevilla) durante dos años consecutivos.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Entre el 1 de enero de 2013 y el 31 de diciembre de 2014 se atendieron, bien en urgencias o estaban ingresados en planta de hospitalización del Hospital Universitario de Valme, un total de 391 pacientes pediátricos (149 en 2013 y 242 en 2014), 227 varones y 164 mujeres, con edades comprendidas entre 2 días y 6 años de vida y que presentaban síntomas de infección respiratoria, mayoritariamente bronquiolitis de posible etiología viral. A todos se les realizó toma de muestra, una por paciente, de exudado nasofaríngeo mediante toma con hisopo nasofaríngeo. Todos los pacientes procedían del Área Sanitaria Sur de Sevilla y todas las muestras fueron enviadas al laboratorio de microbiología del hospital para estudio de infección por el VRS mediante un test rápido para la detección cualitativa de antígenos de VRS por inmunocromatografía. (RSV test Difco, Francis-

co Soria Melguizo S.A, Madrid). Se siguieron las recomendaciones de fabricante para la realización del test y el resultado se informó como positivo o negativo.

RESULTADOS:

De los 391 pacientes estudiados, en 116 (29,7%) se confirmó la presencia de VRS por el resultado positivo del test. En 65 casos la infección se presentó en varones y 51 fueron mujeres. La prevalencia en varones fue del 28,6% y en mujeres del 31,1%.

En 98 casos positivos (84,5%) la infección por VRS se presentó en pacientes con ≤ 2 meses de vida.

La distribución estacional de los casos por meses en los años 2013 y 2014 se presentan en la siguiente tabla.

2013	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Total
nº Pa	52	17	14	8	5	6	1	1	6	13	9	17	149
nº +	30	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	6	44

2014	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Total
nº Pa	51	41	25	8	12	11	5	8	15	13	22	31	242
Nº +	31	22	5	0	0	0	0	0	1	0	1	12	72

nº Pa: pacientes estudiados nº +: pacientes positivos para el RSV test

CONCLUSIONES:

1. La prevalencia del VRS y distribución por edad fueron similares a los descritos en otros estudios de otras áreas geográficas. 2. Los periodos epidémicos se presentan entre diciembre y febrero, coincidiendo con los meses más fríos, alcanzando el máximo en enero. 3. En los meses de invierno es importante realizar un test rápido del VRS para poder adoptar precauciones de transmisión a pacientes no infectados y evitar tratamientos antibióticos innecesarios.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 102

UTILIDAD DE LA DETECCIÓN CUANTITATIVA DEL ANTÍGENO CORE DE HEPATITIS C

Autor/a/s: TORRES DÍAZ, JAVIER LÁZARO-CARRASCOSA FERNÁNDEZ, ISABEL-PÉREZ MENDOZA, ELICIA-MUÑOZ VICENTE, ROSA MARÍA

Centro de trabajo: Hospital Universitario Ntra.Sra.de Candelaria
Localidad: Santa Cruz de Tenerife

Correo electrónico del primer firmante: javierlazarotenerife@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Actualmente el cribaje del virus de la Hepatitis C (VHC) se realiza de forma indirecta por la determinación de Anticuerpo del virus de la Hepatitis C (Ac VHC), disponer de una prueba directa que permita acortar el periodo ventana podría suponer un avance diagnóstico. Por otra parte, cabría valorar si su asociación a la carga viral resultaría útil para un seguimiento más exhaustivo de la respuesta terapéutica.

OBJETIVOS:

Evaluar la detección cuantitativa del Antígeno Core del VHC y su correlación con la carga viral.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Durante el año 2014 en el laboratorio de Microbiología de nuestro hospital trabajamos con 90 sueros para este estudio retrospectivo comparativo, que fueron de pacientes ya diagnosticados VHC. A todas esas muestras se les cuantificó el ARN del VHC por amplifica-

ción genómica (COBAS Ampli Prep / COBAS Taq MAn HCV Test) con un límite inferior de cuantificación 15 UI/ml. Esta técnica se empleó como Gold Standard. Por inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (ARCHITECT HVC Ag ABBOT) se les realizó a estos sueros la detección de Ag (Antígeno) Core VHC, empleando como punto de corte ≥ 10 fmol/ml y zona gris: 3-10 fmol/ml.

Se clasificaron las muestras en cinco grupos, según el valor de la carga viral (CV VHC): 1º negativos (17 muestras), 2º menores 15 (6 muestras), 3º entre 15-1.000 (21 muestras), 4º entre 1.000-10.000 (14 muestras) y el último 5º grupo mayor 10.000 (32 muestras).

RESULTADOS:

El resultado del estudio por grupo fue: 1º negativos con una correlación entre la carga viral y el Ag VHC de 100%. El grupo 2º menor de 15 sólo un positivo de Ag VHC de los 6 sueros CV VHC con una sensibilidad del 16.6%. El grupo entre 15-1.000 sólo 2 casos positivos de 21 CV VHC, con 9.52% de sensibilidad. El grupo entre 1.000-10.000 los casos fueron 8 positivos de 14 CV VHC con 57.14% de sensibilidad. Y el último grupo >10.000 fueron 31 positivos de 32 CV VHC con una sensibilidad de 96.8%.

CONCLUSIONES:

La utilidad de la detección cuantitativa del Antígeno Core de Hepatitis C se muestra muy sensible a cargas virales con valores altos, siendo útil para un diagnóstico de cribado. Pero como seguimiento de la respuesta terapéutica no resultaría aplicable, pues con carga viral moderadamente elevada su sensibilidad es baja.

- Utilización en atención primaria de contenedores con conservantes para la recogida de orina.
- Para valorar la eficacia de las medidas adoptadas se ha estudiado semestralmente el porcentaje de orinas contaminadas según procedencia extrahospitalaria u hospitalaria y porcentaje de orinas rechazadas según procedencia y causa de rechazo.

RESULTADOS:

El porcentaje global de orinas rechazadas durante los tres semestres estudiados ha sido 1,3%, 1,4% y 0,5% respectivamente.

En las muestras de procedencia hospitalaria los porcentajes han variado poco y en las extrahospitalaria se ha producido una disminución en el último semestre.

La causa más frecuente de rechazo ha sido las muestras derramadas o en contenedor inadecuado.

CONCLUSIONES:

Se ha producido una importante disminución en el porcentaje de orinas contaminadas tanto a nivel hospitalario como comunitario.

Se ha producido un descenso en el número de orinas rechazadas, sobre todo en las de procedencia extrahospitalaria debido a una disminución de muestras derramadas y en contenedor inadecuado.

El seguimiento de los indicadores ha permitido confirmar la eficacia de las acciones emprendidas durante el proceso de acreditación para mejorar la calidad en la fase preanalítica

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 106

INDICADORES DE CALIDAD EN UNA UNIDAD DE UROCULTIVOS

Autor/a/s: María Dolores Valera Arcas, Araceli Puertas Rodríguez e Inmaculada Sanpedro de la Torre

Centro de trabajo: Complejo Hospitalario Universitario de Granada

Localidad: Granada

Correo electrónico del primer firmante: mvalera@alorense.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Los indicadores de calidad son un instrumento indispensable en un sistema de calidad para controlar los aspectos más relevantes que afectan a los procesos analíticos.

OBJETIVOS:

Evaluar la eficacia de la implantación de un sistema de calidad ISO para controlar la calidad de las muestras procesadas en una unidad de urocultivos.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se emprendieron las siguientes acciones para adaptar el funcionamiento de la unidad de urocultivos a la norma ISO 15189:

- Sistema de trabajo basado en Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT).
- Implantación de un Procedimiento General de Recepción de Muestras.
- Difusión en el hospital y centros de salud de la Guía del Servicio y de Instrucciones resumidas para la recogida de orina.
- Información en el informe de resultados de las incidencias o causa de rechazo detectadas al recibir la muestra.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 112

DIAGNOSTICO ETIOLÓGICO RÁPIDO DE NEUMONIA POR STREPTOCOCCO PNEUMONIAE

Autor/a/s: ANA MARÍA POZO PEÑA, SUSANA COLLANTE SÁNCHEZ, - MARÍA DEL MAR GARCÍA GONZÁLEZ

Centro de trabajo: UUG DE ANÁLISIS CLÍCOS DEL HOSPITAL DE LA LÍNEA

Localidad: LA LÍNEA DE LA CONCEPCIÓN

Correo electrónico del primer firmante: paquiboronat@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El streptococcus pneumoniae es el agente causal mas frecuente, en nuestro medio, de neumonía adquirida en la comunidad.

El aislamiento del microorganismo en la muestra respiratoria, habitualmente es esputo o en hemocultivos, tiene como principal inconveniente el retraso diagnóstico. Por ello la detección precoz del antígeno neumocócico es fundamental para el diagnóstico rápido y el tratamiento específico de la infección del tracto respiratorio inferior.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizaron 111 determinaciones de antigenuria mediante Binax Now streptococcus pneumoniae, a pacientes mayores de 14 años, que acudieron al hospital de la línea entre Enero de 2013 a Diciembre de 2014.

Binax Now streptococcus pneumoniae es un ensayo de membrana inmunocromatografico que detecta en orina el antígeno polisacárido C, común a todos los serotipos del neumococo.

La prueba se interpreta mediante la presencia o ausencia de 2 líneas detectables visualmente de color rosa púrpura a los 15 minutos, una para la muestra del paciente y otra para el control.

OBJETIVOS:

Evaluar la importancia de esta prueba como ayudante del diagnóstico microbiológico de una posible neumonía por *Streptococcus pneumoniae* y su correlación con otras pruebas microbiológicas.

RESULTADOS:

De las 111 determinaciones de antigenurias realizadas, 9 de ellas fueron positivas. Encontrándose correlación en 7 con hemocultivos, esputos o aspirados bronquiales.

Las otras 2 o no se le solicitó ninguna otra prueba microbiológica o fueron negativas.

CONCLUSIONES:

La detección del antígeno *Streptococcus pneumoniae* en orina permite un diagnóstico etiológico rápido, lo que implica la posibilidad de enfocar hacia un tratamiento empírico correcto a la mayor brevedad posible. Esto favorece la resolución de la enfermedad con menor gasto en salud al evitar ingresos hospitalarios innecesarios, acortar estancias medias y optimizar el uso de antimicrobianos.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 122

MICROORGANISMOS AISLADOS EN PACIENTES VIH MEDIANTE LAVADO BRONCOALVEOLAR (LBA) EN HOSPITAL CLÍNICO DE BARCELONA

Autor/a/s: López Villanueva, Miriam Hurtado, Juan Carlos Puig de la Bellacasa, Jorge

Centro de trabajo: Hospital Clínic de Barcelona

Localidad: Barcelona

Correo electrónico del primer firmante: milovi@gmail.com

RESUMEN:

Microorganismos aislados en pacientes VIH mediante lavado broncoalveolar (LBA) en Hospital Clínic de Barcelona

INTRODUCCIÓN:

El LBA es una muestra representativa de componentes celulares y no celulares del tracto respiratorio inferior por lo que su obtención se utiliza para diagnosticar infecciones que afectan a enfermos inmunodeprimidos ya que permite un estudio microbiológico completo para bacterias, virus y hongos mediante técnicas que pueden dar resultados en pocas horas. Es una técnica segura, con pocas complicaciones mayores.

OBJETIVOS:

describir las características microbiológicas de los LBA obtenidos de pacientes VIH durante los 2 últimos años en el Hospital Clínic de Barcelona.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recogieron resultados de forma retrospectiva de las muestras de LBA realizados a pacientes VIH hospitalizados y ambulatorios durante el periodo de enero de 2013 a enero de 2015, un total de 86 muestras. Las pruebas y técnicas que se realizaron fueron:

- Cultivo de bacterias, micobacterias, hongos y virus.
- Tinciones de Gram, May-Grünwald Giemsa, plata metenamina, Ziehl-Neelsen y azul de calcofluor sobre extensiones por citocentrifugación.
- Detección de antígenos de gripe A y B, Citomegalovirus (CMV), Virus Respiratorio Sincitial (VRS), virus parainfluenza 1, 2 y 3 y antígeno de galactomanano de *Aspergillus* spp.

- Pruebas de biología molecular para detectar complejo *M. tuberculosis* y su resistencia a Rifampicina; para detectar hongos: específica de *Aspergillus* y pruebas panfúngicas; para detectar virus: Gripe A, Gripe B, Adenovirus, Rinovirus, Virus Herpes Simple (VHS), CMV y VRS.

RESULTADOS:

De los 86 LBA, 51 fueron positivos (59,3%) de los cuales en 44 se detectaron microorganismos de interés clínico (86,4%), 7 se dieron como no valorables (13,6%) y en 35 casos el resultado fue negativo (40,7%).

Se identificaron 67 agentes etiológicos:

12 Bacterias (17,62%): 3 *Pseudomonas aeruginosa*, 2 *Stenotrophomonas maltophilia*, 2 *Achromobacter xylosoxidans*, 1 *Bordetella bronchiseptica*, 1 *Staphylococcus aureus*, 1 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Citrobacter koseri*, y 1 *Haemophilus influenzae*;

31 Virus (45,87%): 12 CMV, 4 Adenovirus, 4 Rinovirus, 4 virus Gripe A, 3 VHS 1, 2 Virus parainfluenza 3, 1 Virus parainfluenza 2 y 1 VRS;

22 Hongos (33,53%): 17 *Pneumocystis jirovecii*, 2 *Aspergillus fumigatus*, 2 *Histoplasma capsulatum* y 1 *Aspergillus flavus*;

2 Micobacterias (2,98%) se identificaron: 1 *Mycobacterium tuberculosis* complex y 1 *Mycobacterium avium*.

CONCLUSIONES Y COMENTARIOS:

La etiología más frecuente fue *P. jirovecii* (25,37%). Globalmente las etiologías víricas fueron las más frecuentes con un 45,87% (CMV 17,91%, Adenovirus 6%, Rinovirus 6% y Gripe A 6%). Etiologías fúngicas constituyeron el 33,53% con predominio *P. jirovecii*, siendo significativo los dos casos de *Histoplasma capsulatum*. Las bacterias constituyeron el 17,62% de las etiologías, siendo el grupo bacteriano menos frecuente las micobacterias 2,98%.

En conclusión, se comprueba la utilidad de esta muestra para el diagnóstico de las infecciones en los enfermos con HIV

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 130

UTILIDAD DEL CRIBADO DE CHAMYDIA TRACHOMATIS EN PACIENTES VIH

Autor/a/s: JOSÉ ANTONIO BERNAL CÁCERES, ALICIA AGUILERA GONZÁLEZ, GUILLERMO RODRÍGUEZ MUÑOZ

Centro de trabajo: AGENCIA SANITARIA COSTA DEL SOL

Localidad: MARBELLA

Correo electrónico del primer firmante: antoniobernal69@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Chlamydia trachomatis (CT) es la infección de transmisión sexual más frecuente en el mundo desarrollado (prevalencia del 1,5% al 5%) e incrementa el riesgo de padecer VIH. El objetivo del estudio fue describir la incidencia de CT en pacientes VIH del Distrito Sanitario de la Costa del Sol y valorar la utilidad del cribado específico para CT en estos pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se recogieron muestras (réctales y uretrales) de 39 pacientes entre enero de 2012 y diciembre de 2014 de la Consulta de ETS de la Agencia Sanitaria Costa del Sol y de consultas de Atención Primaria de Salud del Distrito Sanitario de la Costa del Sol. Todos eran varones con edad media de 35.5 (32,49-38,50) que habían sido diagnosticados

previamente de infección VIH. Se realizó PCR para detectar DNA de CT mediante una real time PCR (artus C.trachomatis Plus RG PCR Kit).

RESULTADOS:

Se detectó DNA de CT en 4 pacientes distintos (11,4%) de los 39 estudiados, 2 de muestra rectal y otros 2 de muestra uretral. Se inhibió la PCR en 7 muestras rectales (4 fueron repetidas con resultado negativo y las otras 3 no se pudieron repetir).

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados sugieren la conveniencia de realizar cribado de CT en pacientes infectados por VIH. Es importante realizar una adecuada toma de las muestras para conseguir el mayor rendimiento del diagnóstico.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 151

INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS Y NEISSERIA GONORRHOEAE

Autor/a/s: Quintana Quintana María Luisa, Artilles Hernandez Ana María, Velazquez Miranda Dolores, Montesdeoca Molina Carmen Dunia, Martel Martel Carmen Delia, Merino Martinez Sagrario, Iglesias Illorente Laura
Centro de trabajo: Hospital Univ. de Gran Canaria Dr.Negrín
Localidad: Las Palmas de G.C.

Correo electrónico del primer firmante: widdy2630@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

En los últimos años se ha observado un aumento en la incidencia de infecciones de transmisión sexual (ITS) principalmente en hombres jóvenes. Estas ITS aumentan el riesgo de transmisión de infecciones como el VIH y las hepatitis virales por lo que, ante el diagnóstico de una ITS, se deben descartar otras patologías. El objetivo de este estudio ha sido: conocer las características epidemiológicas de los casos diagnosticados de ITS producidas por Chlamydia trachomatis(CT) y Neisseria gonorrhoeae(NG) en un periodo de 10 años (2003-2013), determinar el porcentaje de pacientes en los que se solicita una serología para descartar infección por VIH, Virus hepatitis B (VHB) y/o Virus hepatitis C (VHC) y el porcentaje de positivos detectados.

MÉTODOS:

Se realizó una revisión retrospectiva de todos los diagnósticos de CT y NG confirmados microbiológicamente desde octubre de 2003 hasta abril de 2013. El diagnóstico de infección por CT y NG se realizó por detección de genoma (ProbeTec ET®, Becton-Dickinson) en exudados uretrales/endocervicales u orinas. NG también se diagnosticó mediante cultivo en agar chocolate y Martin Lewis (10% CO₂ a 35°C durante 72 horas) a partir de exudados uretrales/endocervicales; la identificación se realiza mediante tarjeta NHI (Vitek Systems®, bioMérieux). Se revisó si se había solicitado serología para VIH, VHB (anti-VHB core) y/o VHC en los seis meses posteriores al diagnóstico y se registraron los resultados.

RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se diagnosticaron 960 casos de ITS, 452 (47.08%) infecciones por CT, 431 (44.90%) por NG y 77 (8.02%) infecciones mixtas. La mediana de edad fue de 28 años (intervalo: 7-67), el 72.11% eran menores de 35 años, sólo el 5.3% de los pacientes eran mayores de 45 años y 767 (79.89%) fueron hombres. En

los hombres la distribución de diagnósticos fue: NG en 384 (50.06%) casos, CT en 327 (42.63%) y 56 (7.3%) infecciones mixtas; en las mujeres, se detectó CT en 125 (64.77%) casos, NG en 47 (24.35%) y 21 (10.28%) fueron infecciones mixtas. La mediana de edad fue superior en hombres (28 años) que en mujeres (26 años).

CONCLUSIONES:

Las ITS diagnosticadas microbiológicamente son más frecuentes en varones y en jóvenes. Se detectaron un mayor número de casos de infección por CT que por NG. En hombres fueron más frecuentes las infecciones por NG y en mujeres por CT.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 152

FIEBRE Q CRÓNICA

Autor/a/s: Artilles Hernández Ana María, Quintana Quintana María Luisa, Guerra Roger Rosa María, Santana Muñoz María del Pino, Almeida Almeida Juana, Chamizo López Francisco

Centro de trabajo: Hospital Univ. de Gran Canaria Dr. Negrín

Localidad: Las Palmas de Gran Canaria

Correo electrónico del primer firmante: anartiles_hdez@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La fiebre Q es una zoonosis de distribución universal que afecta a diversas especies animales, especialmente rumiantes, y de modo accidental al hombre. La presentación clínica es muy variada e incluye formas graves con un mal pronóstico. La infección aguda se puede presentar como una infección asintomática, un síndrome gripal, una neumonía o una hepatitis. En algunos casos, la infección puede cronicarse causando cuadros de gravedad como endocarditis, aortitis o espondilodiscitis. El objetivo del estudio fue describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con criterio serológico de fiebre Q crónica (FQC) diagnosticados en nuestro hospital en el período 2008-2012.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio observacional retrospectivo de los pacientes con diagnóstico serológico de fiebre Q del área norte de Gran Canaria entre 2008-2012. Se revisaron retrospectivamente los registros microbiológicos de todos los pacientes en los que se solicitó investigación de C. burnetii. El diagnóstico serológico se realizó mediante detección de anticuerpos frente a C. burnetii por Fijación Complementaria y/o determinación de IgG en fase II por IFI (Viracell®). El despistaje inicial se llevó a cabo mediante la prueba de Fijación Complementaria y ante cualquier resultado positivo (títulos e"1:32) o negativo con alta sospecha, se realizó determinación de IgG en fase II por Inmuno Fluorencia Indirecta. Ante un resultado positivo (títulos e" 1:200), se realizó titulación de IgG frente a antígeno en fase I y II por IFI (Focus Diagnostics®). Se revisaron las historias clínicas de los pacientes con criterio serológico de confirmación de FQC, considerándose como tal un título de anticuerpos de IgG en fase I e" 1:800 por IFI.

RESULTADOS:

De los 6849 pacientes incluidos, 115 (1,67%) presentaban infección por C. burnetii. De éstos, 22 pacientes (19,1%) cumplían criterio serológico de FQC y 13 (11,3%) fueron clasificados clínicamente como FQC. Los casos considerados como FQA se correspondían con 7 hombres y 2 mujeres con una edad media de 52 años (rango 38-72) y los considerados como FQC (59,1%) con 9 hombres y 3 mujeres adultos,

con una edad media de 59.5 años (rango 35-83) y un niño de 12 años. Los principales factores de riesgo de cronicidad encontrados en los pacientes con clínica de FQC fueron: afectación vascular 7 (53,9%), valvulopatía 6 (46,2%) y cardiopatía 5 (38,5%). Cinco pacientes tenían antecedentes de fiebre Q aguda y dos de cirugía cardíaca previa. La presentación clínica más frecuente fue la endocarditis infecciosa (6 pacientes) seguida de espondilodiscitis (3), aneurisma aórtico (2) y hepatitis granulomatosa (1). Tres pacientes presentaban alteraciones neurológicas con títulos superiores a 1:2048. Otros tres pacientes están en seguimiento por diagnóstico previo de FQA con títulos de IgG en fase I persistentemente elevados y, aunque no presentan signos ni síntomas, dos de ellos están en tratamiento por presentar factores de riesgo de cronicidad. Todos los pacientes con FQC recibieron tratamiento antibiótico con dos o más fármacos. Actualmente sólo tres pacientes han completado el tratamiento y la duración del mismo ha sido de 18, 24 y 26 meses. Un paciente fue exitus tras 24 meses de tratamiento con nula respuesta al mismo. Respecto al tratamiento quirúrgico, los dos pacientes con aneurisma aórtico requirieron intervención, mientras que de los 6 pacientes con endocarditis infecciosa, 3 necesitaron cirugía, uno de ellos en dos ocasiones.

CONCLUSIONES:

En nuestro medio las formas clínicas de fiebre Q crónica suponen el 11,3% de los casos diagnosticados de fiebre Q.

Hasta el 40,9% de los pacientes con criterios serológicos de FQC cumplían criterios clínicos de fiebre Q aguda.

La presentación más frecuente de las formas crónicas de fiebre Q fue la endocarditis infecciosa.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 154

IMPACTO DEL SISTEMA DE VILANCIA DEL SARM EN EL "LABORATORI CLÍNIC ICS CAMP DE TARRAGONA I TERRES DE L'EBRE" EN LOS ÚLTIMOS NUEVE AÑOS.

Autor/a/s: José Carlos Zamora Fernández, Susana Parejo Vico, Roser Figarola Cervera, Nuria Calderón Alonso y Rosa Antúnez Pujol.

Centro de trabajo: Laboratori ICS Camp de Tarragona i Terres de l'Ebre

Localidad: Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: josecarlos.zamfer@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La infección nosocomial es, en la actualidad, uno de los principales problemas sanitarios, teniendo particular importancia las infecciones causadas por bacterias multiresistentes. Entre las de mayor interés, por su frecuencia y por las dificultades terapéuticas, se encuentra el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM). Este microorganismo ocasiona brotes epidémicos en los hospitales y en muchos casos se está comportando ya como un microorganismo endémico, con el consiguiente aumento de morbi-mortalidad y coste hospitalario.

El principal reservorio del SARM es el ser humano. Cabe destacar que algunas personas pueden ser portadoras del SARM sin que padezcan ningún tipo de infección, pero sí lo pueden transmitir.

En el Hospital Universitari Joan XXIII de Tarragona se lleva a cabo un sistema de vigilancia desde el servicio de medicina preventiva conjuntamente con el servicio de microbiología del Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona-Terres de l'Ebre.

OBJETIVOS:

Describir qué repercusión se ha obtenido con la vigilancia realizada desde el servicio de medicina preventiva y la rápida respuesta desde el servicio de microbiología durante los últimos 9 años.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realiza un estudio retrospectivo durante los últimos nueve años, desde el año 2005 hasta el año 2013, de todas las muestras de SARM llegadas al servicio de microbiología del Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona i Terres de l'Ebre.

Desde el servicio de medicina preventiva, semanalmente se recoge un frotis nasal a pacientes de alto riesgo (UCI) y a pacientes ingresados de los cuales hay constatación de SARM positivo previo. Una vez se han recogido las muestras, se llevan al laboratorio donde se les hace un siembra en medios de cultivo BBL™!CHROMagar®MRSA II.

BBL™!CHROMagar®MRSA II es un medio diferencial y selectivo que incorpora cefoxitina para la de-tección directa de SARM. Se inocula muestra en la placa y se las deja incubar en condiciones aero-bias a una temperatura de 35-37° durante 18-28h. Al pasar este tiempo, se hace una interpretación de resultados donde las colonias de SARM aparecerán de color malva.

RESULTADOS:

En este estudio se puede observar que en el año 2005 hay un 38% de incidencia de SARM, en el año 2006 hay un aumento de casos positivos hasta el 50% y que en los años sucesivos se reduce hasta el 30% aproximadamente.

CONCLUSIONES:

Cabe destacar la importancia de medicina preventiva junto con la colaboración del servicio de microbiología para prevenir y controlar el número de casos de SARM positivos en pacientes hospitalizados. Por parte del servicio de medicina preventiva para poder controlar a estos pacientes, y por parte del servicio de microbiología por utilizar medios de cultivo selectivos los cuales ayudan a tener un posible diagnóstico precoz para así poder avisar al servicio de medicina preventiva y que éste pueda actuar con la mayor rapidez posible.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 159

DISEMINACION DE LAS ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS EN EL AREA DE SALUD DE TOLEDO

Autor/a/s: Fuentes González, Cristina. Sánchez Brigidano, M. Angeles, Zamarrón Fuertes, Pilar

Centro de trabajo: Hospital Virgen de la Salud

Localidad: Toledo

Correo electrónico del primer firmante: crfugo@sescam.jccm.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La resistencia a antibióticos sobre todo la resistencia combinada a múltiples familias, es una prioridad de primer orden para los enfermos, la comunidad, los profesionales sanitarios y la salud pública, que ha aumentado en los últimos años hasta convertirse en una emergencia sanitaria, afectando fundamentalmente a la familia de las enterobacterias.

Durante los últimos años se ha producido la aparición y dispersión de enterobacterias productoras de unas enzimas denominadas genéricamente carbapenemasas, y que confieren resistencia a todos

los antibióticos β -lactámicos, incluyendo los carbapenémicos, lo cual limita de manera muy importante el arsenal terapéutico disponible.

La aparición de enterobacterias resistentes a carbapenémicos es un alarmante problema mundial ya que se asocia a un aumento de la tasa de mortalidad, a altos niveles de resistencia a otros antibióticos y a un alto potencial de diseminación.

OBJETIVOS:

Describir las características epidemiológicas de bacterias productoras de carbapenemasas en pacientes del área de salud de Toledo.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo donde se revisaron las historias de pacientes con aislamiento de enterobacterias productoras de carbapenemasas durante un periodo de 9 meses (Abril-Diciembre 2014) en el servicio de microbiología del Hospital Virgen de la Salud (HVS) que recibe muestras del Hospital Virgen del Valle (HVV), Hospital Nacional de Paraplégicos (HNP) y centros de atención primaria del área de salud de Toledo.

Se investigó la presencia de carbapenemasa en las cepas en las que los valores de CMI de los carbapenémicos se incrementaron por encima de los correspondientes puntos de corte epidemiológicos (ertapenem >1 , imipenem >2 y meropenem >2), mediante la realización de un test de hodge utilizando disco de ertapenem (10 μ BD®).

Una vez confirmada la producción de carbapenemasa se realizó la identificación de ésta mediante una prueba de sinergia doble en disco utilizando discos con carbapenémicos (meropenem) y discos con inhibidor (ácido fenilborónico para descartar carbapenemasas de clase A (KPC), ácido dipicolínico para carbapenemasas de clase B (VIM) y cloxacilina para descartar los posibles falsos positivos del test de hodge debido a producción de AMPc, KPC+MBL Confirm ID kit. Rosco Diagnostica A/S®).

Así mismo se enviaron todas las cepas al Centro Nacional de Microbiología para confirmación y tipado molecular.

RESULTADOS:

Se obtuvieron 34 enterobacterias productoras de carbapenemasas. Los tipos encontrados 39.4% VIM, 36.4% KPC y 24.2 OXA-48. El porcentaje de KPC aisladas no se corresponde con un brote.

Los microorganismos productores de carbapenemasas fueron 24 *K.pneumoniae* (71.8%), 4 *C.freundi* (10.3%), 2 *E.cloacae* (7.7%), 2 *K.oxytoca* (5%), 1 *E.aerogenes* (2.6%) y 1 *E.coli* (2.6%). Con respecto a las carbapenemasas aisladas por microorganismo la distribución: en *K.pneumoniae* se aisló 43% KPC, 32% OXA 48 y 25% VIM. *C.freundi* 100% VIM, *K.oxytoca* 50% OXA-48 y 50% VIM y *E.aerogenes* 67% VIM y 33% OXA-48.

Los servicios de ingreso de los pacientes colonizados/infectados fueron: 56% UCI (HVS), 35% HNP, 6% HVV y 3% atención primaria.

La distribución de carbapenemasas según el servicio de ingreso fue la siguiente: UCI (HVS) el 50% KPC y 50% VIM, HNP 66% OXA-48, 22% KPC y 22% VIM, HVV 100% OXA-48 y atención primaria 100% VIM.

El tipo de muestra donde se aislaron fue 51% en muestras de superficies para estudio de portadores, 26% orinas y 23% muestras respiratorias.

CONCLUSIONES:

A diferencia de lo que ocurre a nivel nacional, en nuestro medio la carbapenemasa aislada más frecuente es de tipo VIM.

La carbapenemasa tipo KPC presenta una elevada prevalencia comparada con las tasas descritas a nivel nacional.

Al igual que en los datos publicados *K.pneumoniae* es el germen portador de carbapenemasa más aislado.

En nuestro estudio, *K.pneumoniae* es el germen con mayor prevalencia de KPC mientras que otras especies como *C.freundi*, *E.cloacae* y *K.oxytoca* su prevalencia es VIM.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 161

ESTUDIO DE DERMATOFITOS AISLADOS EN EL HUVV DE MÁLAGA DURANTE TRES AÑOS

Autor/a/s: BARRANCO TORRES RAFAELA, MARQUEZ SALAZAR RAFAEL, GUERRERO CRESPILO ANGELA MARIA, SENA CORRALES GABRIEL, CLAVIJO FRUTOS ENCARNACIÓN.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LA VICTORIA

Localidad: MÁLAGA

Correo electrónico del primer firmante: rafibarr@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La infección por hongos dermatofitos que producen micosis superficiales, ha aumentado considerablemente en los últimos años en todo el mundo, la piel es el órgano principal de localización. Son queratinófilos, se asientan en el hombre en zonas queratinizadas: piel, uñas, pelos. Son filamentosos y tabicados. Se clasifican en tres géneros: *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*.

OBJETIVOS:

Determinar las especies de dermatofitos más frecuentes en las muestras recibidas en nuestro laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Durante el periodo Abril de 2011 a Mayo de 2014 se procesaron 1602 muestras, de las cuales 642 procedían de la consulta de dermatología y 960 de centros de salud. Las muestras recibidas fueron: escamas de piel, uñas y pelos.

Se procesaron según procedimiento normalizado de trabajo (PNT) de la sección de hongos, realizándose una primera observación con KOH-glicerina-tinta china al 10%, posteriormente se cultivaron a 30°C en medios especiales para hongos agar sabouraud-cloranfenicol-actidiona (cicloheximida), agar dextrosa sabouraud (SDA) durante 21 días. Las colonias fueron subcultivadas en medios favorecedores de conidiogénesis en agar patata dextrosa. La identificación final se realizó mediante observación microscópica de las conidias a partir de los subcultivos.

RESULTADOS:

De las 1602 muestras procesadas fueron positivas 180, afectando en un 48.8% a hombres y un 52.2% a mujeres. Los dermatofitos aislados fueron: *Trichophyton rubrum* en 113

(62%), *T. tonsurans* 24 (13%), *Microsporum canis* 22 (12%), *T. mentagrophytes* 12 (7%), otros aislados menos frecuentes fueron *Trichophyton* spp., *T. verrocosum* y *Microsporum ferrugineum* con 1.5%. *T. violaceum*, *Microsporum gypseum* y *Epidermophyton floccosum* con 0.5%.

CONCLUSIONES:

Como era de esperar, la especie más frecuentemente aislada fue *Trichophyton rubrum*, seguida de *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum canis*. La diferencia por sexo no fue significativa. Destacar también en nuestro trabajo un porcentaje significativo de otras especies de dermatofitos de importancia clínica.

ADAPTACIÓN DE UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DEL VIRUS ÉBOLA ZAIRE

Autores: García González Cristina, Alami Tajri Bouchra, Alcón Alegre Mercedes, Bermejo Morgado Cristina, Alonso Sánchez de Molina María del Mar.

Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz-Cantoblanco-Carlos III (Servicio de Microbiología) Localidad: Madrid

Dirección del primer firmante: c/ Daniel Barenboim, nº 6, 2º Dcha

Localidad: Alcorcón

Correo electrónico del primer firmante: crisigg@hotmail.com

INTRODUCCIÓN:

La Enfermedad del Virus Ébola (EVE) ha supuesto una grave amenaza a raíz del brote originado en Guinea, en Diciembre de 2013. De las 5 especies del género Ebolavirus, la causante del brote ha sido Ébola Zaire. En el ser humano tiene una alta tasa de letalidad y se transmite de persona a persona por contacto directo o indirecto a través de objetos contaminados, lo que ha contribuido a su propagación a otros países. Esta situación ha obligado al desarrollo de planes de contingencia para frenar la enfermedad a nivel internacional. Concretamente en la Comunidad de Madrid, el Hospital de referencia ha sido La Paz-Cantoblanco-Carlos III.

OBJETIVO:

Analizar muestras sanguíneas, ante casos sospechosos de EVE, para emitir un diagnóstico rápido de la enfermedad, sin poner en riesgo la seguridad de los profesionales.

MATERIAL Y MÉTODOS:

TÉCNICA:

Se desarrolló un protocolo específico para el diagnóstico de virus Ébola Zaire. Las muestras se inactivaron in situ utilizando tubos de EDTA a los que se añadió AVL (agente caotrópico) para obtener una proporción AVL:sangre de 1:4. Se extrajeron los ácidos nucleicos totales de las muestras inactivadas utilizando los sistemas automáticos MagNa Pure Compact (Roche) y Maxwell® 16 MDx (Promega). Se amplificó el genoma viral utilizando los kits comerciales LightMix Modular Ebola Virus Zaire (Roche) y RealStar® Filovirus Screen RT-PCR kit 1.0 (Altona).

Se optimizaron los protocolos utilizando muestras de sangre inoculadas artificialmente con ARN de virus Ébola obtenido del Centro Nacional de Microbiología. Se realizaron diluciones seriadas del control y se comprobó que se detectaban correctamente diluciones hasta 10⁻⁴, que era el mismo umbral de detección obtenido en el Laboratorio de Filovirus del Centro Nacional de Microbiología.

Se incluyó el diagnóstico del paludismo (FTD Malaria, FAST-TRACK DIAGNOSTIC) en el protocolo del Servicio, debido a la alta incidencia de dicha enfermedad en los países considerados de riesgo, ya que los síntomas de ambas enfermedades son inespecíficos y muy similares entre sí.

GRUPO DE TRABAJO:

Se constituyó un equipo de voluntarios con 5 Técnicos especialistas de Laboratorio y 6 facultativos para poner en marcha de este proyecto.

Se les dio formación específica sobre la correcta utilización de los equipos de protección individual a todos los integrantes del grupo.

Se realizaron simulacros periódicos siguiendo las normas establecidas según protocolo, desde que se activó la alarma a nivel internacional hasta su desactivación en febrero de 2015. En total fueron 15

simulacros, en los que se trabajó con muestras preparadas artificialmente y 3 intervenciones reales, donde se manejaron muestras de sangre de pacientes con sospecha de la enfermedad.

RESULTADOS:

Adiestramiento de un grupo de profesionales sanitarios para trabajar en condiciones de alta seguridad.

Elaboración de un protocolo de trabajo para el diagnóstico del virus Ébola Zaire.

Posibilidad de formación de una Unidad de Aislamiento de Alto Nivel específica para el diagnóstico de enfermedades altamente contagiosas.

CONCLUSIONES:

El Servicio de Microbiología del Hospital Universitario La Paz-Cantoblanco-Carlos III ha sido capaz de formar en un tiempo récord a un equipo de profesionales sanitarios para dar una respuesta rápida de diagnóstico del virus Ébola Zaire, a pesar de la presión mediática.

Se han minimizado los riesgos laborales de contagio en el laboratorio, permitiendo trabajar con un nivel de bioseguridad P-2, mediante la inactivación de las muestras antes de su procesamiento.ññ

PLAN DE DETECCIÓN PRECOZ DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

Autores: García González Cristina, Alami Tajri Bouchra, Prieto Casado Pablo, Tato Gutiérrez Esther, Molina Muñoz María Elena

Centro de trabajo: Hospital Universitario La Paz (Servicio de Microbiología) Localidad: Madrid

Correo electrónico del primer firmante: crisigg@hotmail.com

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

Las carbapenemasas son un grupo variado de enzimas capaces de hidrolizar los carbapenémicos y que confieren, en la mayoría de las ocasiones, resistencia a estos antimicrobianos.

Las infecciones por enterobacterias productoras de carbapenemasas (EPC) están asociadas a una elevada tasa de mortalidad y a una amplia capacidad de diseminación. Además pueden adquirir características genéticas que les hace resistentes a la mayoría de los antibióticos limitando enormemente las opciones de tratamiento.

El aumento en la incidencia de EPC experimentado en Europa desde el 2011 y, en especial, la situación epidemiológica que sufre la Comunidad de Madrid tras la detección de la presencia de la carbapenemasa OXA-48, ha motivado la implementación de un Plan de Actuación para tomar medidas en los centros sanitarios de la región para la prevención y control de las EPC.

Una de las medidas tomadas es la detección precoz de las EPC en pacientes considerados de riesgo de infección o colonización. Los criterios de riesgo incluyen haber sufrido una infección previa o haber estado colonizado, y haber estado ingresado en este hospital en algún momento desde el inicio del brote. El estudio se realizó a los pacientes pendientes de ingreso desde el Servicio de Urgencias para minimizar la diseminación de las resistencias y optimizar el tratamiento en caso de estar sufriendo una infección.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Las muestras a estudiar se obtuvieron mediante exudado rectal, realizando un total de 582 tomas de las cuales 342 fueron hombres y 240 mujeres entre el periodo 1/07/2013 a 31/12/2014.

Las muestras se procesaron mediante técnica de PCR a tiempo real con OXVIKP-GE® (Progenie Molecular®) el cual permite la detección genómica de carbapenemasas: KPC (Clase A), VIM (Clase B o metallo- β -lactamasas) y OXA-48 (Clase D). Obteniendo los resultados en aproximadamente 2 horas.

RESULTADOS:

Resultados negativos: 537(92%). 318 hombres (54%) y 219 mujeres (38%).

Detección de genoma OXA-48: 19 (3,2%) (10 hombres y 9 mujeres).

Detección de genoma VIM: 13 (2,2%) (8 hombres y 5 mujeres).

Detección de genoma KPC: 0.

Reacción Inhibida o PCR inhibida: 13 (2,2%) (6 hombres y 7 mujeres).

CONCLUSIONES:

Mediante el protocolo descrito se identificó a 32 pacientes colonizados por EPC antes de su ingreso en planta, lo que permitió dirigir el ingreso a una unidad de aislamiento con precauciones de contacto.

Un 5,4% de los pacientes de riesgo resultaron ser positivos, y podrían actuar como transmisores de EPC a otros pacientes si no se detectasen a tiempo. Esto refuerza la necesidad de un sistema de alertas que identifique a los pacientes de riesgo y un sistema de detección rápida de EPC para minimizar la posibilidad de su diseminación en el centro sanitario.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 175

SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS E EN ADULTOS SANOS EN EL ÁREA DE SALUD DE SALAMANCA

Autor/a/s: Salvador Lorenzo, María José; María Domínguez, Bernardina; Blanco del Pozo, Manuela; Corral Vicente, María Soledad.

Centro de trabajo: Hospiral Clínico Universitario de Salamanca

Localidad: Salamanca

Correo electrónico del primer firmante: majosal19@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El virus de la hepatitis E (VHE), descrito en 1983, se ha asociado durante años a transmisión fecal oral en países con escaso desarrollo sanitario. Posteriormente se ha descrito que, mientras este patrón epidemiológico puede ser correcto para los genotipos 1 y 2, los genotipos 3 y 4 se encuentran en humanos y en ganado porcino, y la transmisión parece seguir un patrón zoonótico. Al tiempo la prevalencia en países occidentales, con alto desarrollo sanitario, es mayor de lo que se venía pensando.

OBJETIVOS:

Determinar mediante este estudio la prevalencia de anticuerpos frente al VHE y la presencia de viremia por VHE en individuos adultos sanos en el Área de Salud de Salamanca.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se determinó la prevalencia de anticuerpos de tipo IgG e IgM frente al VHE en 224 donantes de sangre (59% varones, 41% mujeres), mediante un ELISA en microplaca (DIA.PRO Diagnostic Bioprobes Srl, Milán, Italia). Cuando la IgM fue positiva, se realizó una PCR para comprobar la presencia de viremia. Todos los donantes tenían cifras de transaminasas normales.

RESULTADOS:

Se detectó la presencia de IgG frente al VHE en 32 individuos (14%). 23 pacientes IgG positivos fueron varones (71,9%) y 9 fueron mujeres (28,1%) ($p=0,054$). La IgM fue positiva en sólo 2 pacientes, y la PCR fue negativa en ambos. La mayoría de los donantes estaban en el grupo de edad entre 35 y 45 años (40%). En conjunto, la seroprevalencia aumentó con la edad, desde un 5% en pacientes <35 años, hasta 32,1% en pacientes con 46-55 años.

CONCLUSIONES:

La hepatitis E es una causa importante de hepatitis vírica aguda en países con bajo nivel de desarrollo sanitario, donde causa tanto casos esporádicos como brotes epidémicos. El VHE sería la causa del 3-5% de los casos de hepatitis aguda en Holanda y el Reino Unido, y de alrededor del 10% en Finlandia, Hungría y España. La prevalencia en este estudio ha sido discretamente superior que en estudios anteriores realizados en España, probablemente en relación con la importante actividad de cría de ganado porcino e industria charcutera. La mayor prevalencia en varones y en los grupos de mayor edad sugieren asimismo una asociación con actividades laborales.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 184

ESTUDIO COMPARATIVO DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN PROTEICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MALDI-TOF)

Autor/a/s: Struzka Eduardo Adrián, Alcaide Fernandez de Vega Fernando, Prats Clara, Macías Ibán, Moreno María del Mar, Ramírez Novés José Luis.

Centro de trabajo: Hospital Universitari de Bellvitge

Localidad: Hospitalet de Llobregat

Correo electrónico del primer firmante: eduas22@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las micobacterias son microorganismos causantes de importantes enfermedades infecciosas como la tuberculosis, la lepra y las micobacteriosis. Algunas de las características propias de estas bacterias hacen que la identificación microbiológica sea lenta y costosa. La espectrometría de masas con matriz asistida por láser desorción/ionización en tiempo de vuelo (MALDI-TOF) sirve para detectar proteínas y ha demostrado ser muy eficaz para la identificación de bacterias convencionales. Las micobacterias, sin embargo, necesitan un tratamiento previo a la extracción proteica debido a la elevada concentración lipídica de su pared.

OBJETIVOS:

a) Analizar la posibilidad de utilizar MALDI-TOF para la identificación de las especies del género *Mycobacterium*. b) Analizar y optimizar diversos protocolos de extracción de proteínas necesario para la identificación de las especies de micobacterias.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio retrospectivo (marzo-junio de 2014) en el laboratorio de micobacterias del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario de Bellvitge (Hospitalet de Llobregat). Se analizaron 66 cepas de aislamientos de muestras clínicas. Las cepas fueron identificadas mediante métodos de referencia: 1) fenotípicos; 2) inmunocromatográficos; y 3) moleculares (PCR-hibridación inversa y secuenciación). El estudio proteínico de las cepas se realizó mediante el MALDI-TOF Microflex LT (Brucker Daltonics®). Los protocolos analizados de extracción de proteínas fueron tres: el establecido por el fabricante (A: con acetonitrilo y ácido fórmico) y dos más propuestos en el estudio (B: añadiendo congelación y C: añadiendo congelación con centrifugación y empleando el sobrenadante). Todos los ensayos se realizaron por

triplicado. El programa informático del MALDI-TOF da un valor (score) de 0 a 3 en función de la coincidencia de los perfiles proteicos obtenidos con la librería del propio sistema MALDI-TOF. Un score e" 2 se considera identificación de especie, un score 1,7-1,999 identificación de género y un score 0-1,699 identificación no fiable.

RESULTADOS:

Con los 3 protocolos en conjunto (A, B y C), la detección de proteínas fue positiva en el 86% de las cepas y en un 76% la identificación se correlacionó con los métodos de referencia incluyendo score < 1,7. El protocolo B es el que mostró mejores resultados: 23% con score e" 2 y 54% con score e" 1,7. Pero cuando se sumaron los resultados de los 3 protocolos (A+B+C) se obtuvieron los siguientes datos: 36% con score e" 2 y 56% con score e" 1,7. El protocolo A fue el menos eficaz: 9% con score e" 2 y 11% con score e" 1,7.

CONCLUSIONES:

Aunque el MALDI-TOF ha demostrado ser un método rápido, sencillo y económico en la identificación de las especies micobacterianas, aún es necesario optimizar el método de extracción de proteínas para mejorar más su sensibilidad.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 199

DETECCIÓN DE ENTEROBACTERIAS MEDIANTE MÉTODO SELECTIVO CON CEFOTAXIMA

Autor/a/s: Rivera Gentil , Rocío ; González Pacheco , Antonio; Díaz Campos Jesus María ;Berral Baena, Francisca

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena

Localidad: (Sevilla)

Correo electrónico del primer firmante: rrgentil72@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La reciente emergencia y diseminación de enterobacterias productoras de beta-lactamasas capaces de hidrolizar carbapenémicos representa un problema significativo en el diseño de medidas de control de infección nosocomial. En estas especies se ha descrito que tanto las carbapenemasas adquiridas, de clase A, B o C, como la hiperproducción o modificación de las enzimas AmpC pueden conferir disminución de la sensibilidad a estos antibióticos. Actualmente no se dispone de técnicas basadas en cultivo eficaces para la detección de portadores.

OBJETIVO:

Analizar los resultados utilizando un medio selectivo con cefotaxima para la detección de pacientes colonizados por enterobacterias con sensibilidad disminuida a carbapenémicos.

Material y métodos: En nuestro hospital se toman muestras de vigilancia de frotis rectal y axilar de todos los pacientes que ingresan en UCI y a los 15 días si permanecen ingresados, además, a los pacientes trasladados de / y a otro hospital o que tengan antecedentes de colonización por *A. baumannii* y/o *Klebsiella* multirresistente. Las muestras se inoculan en agar MacConkey con 4 mg/l de cefotaxima (McCC). Desde mayo 2011 hasta enero 2012 las colonias compatibles con enterobacterias se identificaron con pruebas bioquímicas y api 20E y se estudió la sensibilidad mediante discos de cefotaxima y ceftazidima con y sin clavulánico en agar Mueller Hinton (MH) y en MH suplementado con 200 mg/l de cloxacilina y discos de ertapenem, meropenem e imipenem en MH. Si el halo para algún carbapenémico eran ≤ 21 mm, se realizaba el test de Hodge utilizando el disco de ese carbapenémico. En los aislados con resultado positivo al test de Hodge se investigaba la presencia de carbapenemasas mediante PCR con cebadores específicos a enzimas de clase B (GIM, IMP, VIM y SPM), clase A (KPC, SME, NMC, IMI y GES) y clase D (OXA-48).

RESULTADOS:

se recuperaron enterobacterias en 231 (12%) de 1912 muestras inoculadas en McCC, siendo la más frecuente el frotis rectal (82% de las muestras). Se detectaron aislados productores de BLEE en 105 (5,5%) muestras (70% *E. coli*, 25% *K. pneumoniae*) y en este grupo sólo dos mostraron halos <21 mm para carbapenémicos y uno de ellos (*K. pneumoniae*) fue por producción de OXA-48. En 125 (54%) muestras, los aislados eran no productores de BLEE y 42 (90% *Enterobacter* spp, 7% *E. coli*) de estos aislados (2,2% del total de muestras) presentaban halos <21 mm a ertapenem y en 12 el test de Hodge fue positivo, aunque no se detectó ninguna carbapenemasa por PCR.

CONCLUSIONES:

1) se detectó un porcentaje de pacientes portadores de enterobacterias productoras de BLEE similar al descrito en nuestra área previamente; 2) se observa una baja prevalencia de pacientes colonizados con enterobacterias con sensibilidad disminuida a ertapenem, principalmente por hiperproducción de AmpC en *Enterobacter* spp, y sólo se detectó un caso, durante el periodo de estudio, colonizado por *K. pneumoniae* productor de carbapenemasa y BLEE.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 201

PREVALENCIA DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE EN MADRES COLONIZADAS Y TRANSMISIÓN DE MADRE A RECIÉN NACIDO

Autor/a/s: Rivera Gentil , Rocío ; González Pacheco , Antonio , Díaz Campos Jesús María ; Berral Baena , Francisca

Centro de trabajo: Hospital Universitario Virgen Macarena

Localidad: (Sevilla)

Correo electrónico del primer firmante: rrgentil72@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Escherichia coli es uno de los agente más comunes causantes de infecciones neonatales graves . El ritmo creciente de la colonización intestinal con Enterobacterias productoras de BLEE en la comunidad puede aumentar el riesgo de transmisión materno-fetal .

OBJETIVOS:

El estudio de la prevalencia de Enterobacterias productoras de BLEE en las mujeres que dan a luz en nuestro hospital y la tasa de transmisión a los recién nacidos.

MATERIAL Y MÉTODO:

Los hisopos Vagino - rectales de las madres y los hisopos rectales de los recién nacidos fueron recogidos durante un período de 3 meses . La Identificación bacteriana se realizó por métodos estándar y la producción de BLEE se confirmó por el fenotipo de resistencia utilizando la prueba de sinergia de doble disco en agar de MuellerHinton con y sin 200 mg / l de cloxacilina de CLSI { ClinicalandLaboratoryStandardsInstitute } . La relación genética entre los aislados de *E. coli* fue determinado por Xbal electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE).

RESULTADOS:

Desde agosto hasta octubre de 2013 , 39 de 406 (9,6%) las madres que dan a luz en nuestra institución fueron colonizados con BLEE Enterobacteriaceae. Un total de 33 (85 %) productores de BLEE *E. coli* (ESBLEC), 5 (13 %) productores de BLEE *K. pneumoniae* (ES-BLKP) y 1 (2,5 %) se identificaron productores de BLEE *K. oxytoca* de frotis vagino rectal. Nueve de sus recién nacidos (2,2 %) fueron colonizados

DETECCION DE CARBAPENEMASAS EN CULTIVOS DE HECES MEDIANTE UN MEDIO CROMOGÉNICO

Autor/a/s: BARBA MIRAMONTES MARIA JOSE

Centro de trabajo: CHUAC

Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: merymbst@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Las bacterias productoras de carbapenemasas son un problema emergente para los sistemas de salud, dada su alta mortalidad, costos de tratamiento y persistencia en las superficies. La detección oportuna podría ayudar a disminuir la tasa de infección. La aparición en nuestro hospital de un brote de carbapenemasa blaOXA-48 nos hizo plantearnos un estudio de colonización en los cultivos de heces.

OBJETIVOS:

Determinar la existencia de colonización en pacientes tanto en área hospitalaria como en el área ambulatoria mediante un medio cromogénico para screening de carbapenemasas en enterobacterias

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudiaron 84 cultivos de heces, de los cuales 39 correspondían a pacientes del área sanitaria no hospitalizados y 44 a pacientes hospitalizados. Las muestras eran cultivadas en diferentes medios de cultivo según protocolo de heces: Agar sangre, Agar Maconkey, Agar Yersinia CIN, Agar Sorbitol, Agar Campylobacter y Caldo selenito (subcultivo a 24 horas en Agar SS). Se valoraba el crecimiento según patógenos habituales.

Además se añadía una placa cromogénica específica de detección de carbapenemasas: chromID® CARBA agar (bioMérieux). Cualquier crecimiento que hubiera en dicha placa se estudiaba mediante Espectrometría de Masas (MALDI-TOF) para su identificación y posterior estudio de su antibiograma mediante la técnica disco-difusión en Muller Hinton. También se realizaba el test de Hodge y si este era positivo mediante PCR se realizaba la determinación de carbapenemasas con primers específicos (blaVIM, blaIMP, blaKPC, y blaOXA-48).

RESULTADOS:

Respecto al cultivo habitual de los 84 cultivos de heces: 71 eran flora saprofita, en 10 no se aislaba bacilo gramnegativo entérico habitual, 1 cultivo presentaba ausencia de flora, 1 abundantes levaduras y 1 era positivo a Salmonella entérica subsp. ent.

Respecto a la placa cromogénica los resultados fueron: hubo un falso positivo Klebsiella pneumoniae en la que el antibiograma presentaba sensibilidad a los carbapenémicos y el test de Hodge fue negativo. Un positivo a K. pneumoniae productora de blaOXA-48 que fue confirmada por test de Hodge y PCR con primers específicos de blaOXA-48.

CONCLUSIÓN:

Que la utilización de placas específicas es de gran ayuda a la hora de determinar la existencia de carbapenemasas y facilita su rápida detección.

CASO CLINICO: ESTUDIO DE CEPA E.COLI RESISTENTE A CARBAPENEMAS

Autor/a/s: Barba Miramontes, María José;

Centro de trabajo: CHUAC

Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: merymbst@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Enterobacteriaceae son microorganismos causantes de múltiples infecciones hospitalarias. Por muchos años, los carbapenemas fueron los agentes antibacterianos contra los cuales no existía resistencia pero cada vez se observa un incremento en la resistencia de estos microorganismos en todo el mundo.

OBJETIVO:

Estudiar la resistencia en una cepa de E.coli detectado en un hemocultivo de un paciente hospitalizado.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La muestra se recibió de un hospital externo para su estudio. Se realizó la identificación y antibiograma por medio de MicroScan® WalkAway®, se confirmó la identificación por medio de Espectrometría de Masas (MALDI-TOF) y la susceptibilidad antibiótica se comprobó mediante disco-difusión en Muller Hinton con discos antibióticos y Etest®.

Se realizó también un test microbiológico de Hodge con discos de ertapenem y meropenem. Se llevó a cabo un screening de carbapenemasas (blaVIM, blaIMP, blaKPC, y blaOXA-48), así como la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y betalactamasa tipo AmpC mediante PCR con primers específicos. Se estudió la sinergia con ácido borónico, con cloxacilina, con EDTA y con ácido dipicolínico (Rosco Diagnostica).

RESULTADOS:

La cepa resultó ser resistente a carbapenemas. El test de Hodge fue positivo tanto con discos antibióticos de ertapenem y meropenem. El screening de carbapenemasas por medio de PCR dio negativo, (aunque aparecieron bandas que fueron secuenciadas resultaron ser inespecíficas) se detectó mediante PCR una b-lactamasa AMPc tipo CMY- que fue secuenciada. Se observó sinergia con ácido borónico y con cloxacilina.

CONCLUSIÓN:

La resistencia a los carbapenemas en esta cepa estudiada de E.coli se debía a la combinación de varios mecanismos de resistencia. Posiblemente a la producción de una ²-lactamasa AmpC CMY-2 junto a la disminución de la permeabilidad de la membrana externa por la pérdida de porinas.

Resumen Comunicación Científica - ORAL PANEL

DETECCION DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE OXA-48 MEDIANTE MALDI-TOF USANDO TEMOCILINA COMO MARCADOR DIAGNÓSTICO

Autor/a/s: Barba Miramontes, María José; Oviño García, Marina; Fernández, Begoña; Oteo, Jesús; Campos, José; Arevalo Bou, German

Centro de trabajo: CHUAC

Localidad: A CORUÑA

Correo electrónico del primer firmante: merymbst@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

Debido al aumento en la diseminación de enzimas tipo OXA-48 en Europa, se está considerando la alternativa de recuperar compuestos que estaban en desuso, como la temocilina. Especialmente como estos aislados poseen una concentración mínima inhibitoria de carbapenémicos baja, contrario a la temocilina, a la cual las cepas tipo OXA-48 muestran altos niveles de resistencia. Además, si conside-

ramos la necesidad de proporcionar una respuesta rápida y métodos sensibles, proponemos la utilización del MALDI-TOF como un método proteico para la detección de carbapenemasas centrándonos en blaOXA-48

MÉTODOS:

Se evaluó en paralelo el método de disco difusión por RoscoR y la observación del espectro de temocilina (Eumedica) por MALDI-TOF en una serie de 94 aislados caracterizados, 73 de ellos portadores de carbapenemasas: 15 blaKPC, 23blaVIM, 3blaNDM, 12blaIMP and 20blaOXA. Los puntos de corte para este estudio fueron propuestos por Huang et al. 2014. (<12mm). El ensayo se realizó como previamente ha descrito Sparbier et al. 2011.

RESULTADOS:

Los aislados que no presentaban resistencia antimicrobiana, enzimas tipo AmpC, ESBL y KPC fueron sensibles a la temocilina. Por el contrario, y como ya se ha descrito previamente los aislados portadores de carbapenemasas mostraban diferentes niveles de resistencia, siendo

β -Lactamase	Aislados por β -lactamase (n)	Temocilina		MALDI-TOF MS	
		Promedio diámetro sensibilidad (mm)	Resistencia (<12mm)	Promedio tiempo detección hidrólisis temocilina (min)	Sensibilidad
none	5	24,6	0%	-	-
AmpC	11	18	0%	-	-
ESBL	5	24	0%	-	-
KPC	15	18,8	0%	-	-
VIM	23	10,5	70% (16/23)	36,4	88% (14/16)
NDM	3	11	67% (2/3)	75	100% (2/3)
IMP	12	17,5	25% (3/12)	45	100% (3/3)
OXA	20	9,2	100% (17/17)	15	100% (17/17)

CONCLUSIÓN:

Los resultados muestran que la temocilina es un buen marcador para los aislados que contienen carbapenemasa OXA-48, pero no se pueden utilizar para la discriminación del resto de carbapenemasas excepto KPCs, puede ser también resistente. Para alcanzar una adecuada detección de carbapenemasas, deben añadirse a mayores otros inhibidores de carbapenemasas al ensayo. MALDI-TOF permite una identificación más exacta de a los aislados con carbapenemasas OXA-48, debido a que la hidrólisis de temocilina se produce en 15 minutos y el promedio de hidrólisis para el resto de enzimas es mayor. La sensibilidad de detección para cepas de OXA-48 es del 100%.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 207

EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA DE PCR COMERCIAL PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN EXUDADOS NASALES Y COMPARACIÓN CON CULTIVO CROMOGENICO.

Autor/a/s: RAMOS SIERRA LETICIA, HERNÁNDEZ DÍAZ MARIO, GARCÍA JIMÉNEZ MIRIAM, REINA COMPANY DIANA, GÓMEZ MARTÍNEZ ELISA, MARTÍN VILLARUBIA PALMIRA, FERNÁNDEZ GARCÍA AURORA, SÁNCHEZ ROMERO M^a ISABEL, PORTERO AZORÍN M^o FRANCISCA.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA

Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: leticia_ramos_sierra@hotmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El Staphylococcus aureus resistente a meticilina (SARM) es una importante causa de infección nosocomial y durante muchos años ha

sido considerado un patógeno clásicamente hospitalario, sin embargo, en los últimos años ha aumentado su importancia como patógeno comunitario.

OBJETIVO:

Evaluar las características de un método comercial de PCR BD GeneOhm TM Staph SR para la detección rápida de Staphylococcus aureus y SARM comparándolo con cultivos cromogénicos en placas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se estudiaron 274 muestras de exudados nasales durante un periodo de 7 meses (05/02/2013 hasta el 08/09/2013). Por cada petición se recibieron 2 muestras, una en escobillón Copan seco para la técnica de PCR y otra en escobillón Copan con medio de transporte Amies para el cultivo. Para la PCR se coloca la torunda nasal en un tampón de muestras y se lisa, a continuación se añade una alícuota de la muestra lisada a una mezcla de reactivos de PCR que contiene los cebadores específicos para SARM utilizados para amplificar en el caso de estar presentes las dianas genéticas. Para el cultivo se siembra la torunda en medio ChomID MRSA (Biomerieux) a 35°C durante 24/48 horas.

RESULTADOS:

Se procesaron un total de 274 muestras de exudados nasales en pacientes adultos con edades comprendidas entre 17 y 93 años. Con una edad media de 64 años. 164 (59.9%) procedían de la Unidad de Cuidados Intensivos, 99 (36.1 %) de la Unidad de úlceras y los restantes de otros Servicios. 11(4%) fueron inválidos, principalmente torundas con sangre, 194 (71%) negativos, 47(17%) S.aureus, resistente a meticilina 22 (8%) S.aureus. La sensibilidad analítica obtenida fue 93.3% y la especificidad fue de 96.8%. Resultando un valor predictivo positivo de 63.8% y un valor predictivo negativo 99.6%.

CONCLUSIONES:

La PCR BD GeneOhmTM tiene un tiempo de respuesta inferior de 2 horas. Es una técnica de fácil realización y adecuada por su sensibilidad y especificidad para la detección rápida de Staphylococcus aureus en muestras nasales. Los restos sanguíneos que contenían algunas de las muestras han podido interferir en la técnica dando un resultado inválido. Su elevada sensibilidad en la detección de SARM la hace especialmente útil como método de screening de este microorganismo lo que permitiría descartar directamente sin cultivo las muestras con resultado negativo. Aunque las técnicas moleculares son muy sensibles y rápidas su coste es mayor que el del cultivo, por lo que puede no ser lo más apropiado para cualquier laboratorio. Como limitación a su implantación está su elevado coste y la necesidad de disponer de un Servicio de Microbiología que funcione los 365 días del año las 24 horas, para poder justificar el tiempo de respuesta como ventaja.

MISCELANEA

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 017

COMUNICACIÓN DE INCIDENCIAS PREANALÍTICAS.

Autor/a/s: DANIEL PINO LÓPEZ, CESAR CONTRERAS, HANANE HAMRI, JESICA BRESCIA, ALICIA GOMEZ, PAULA PORRAS, VANESA GONZALEZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL COSTA DEL SOL

Localidad: MARBELLA

Correo electrónico del primer firmante: ROTACISMO5@HOTMAIL.COM

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Existen incidencias preanalíticas, que deberían ser informadas lo antes posible a enfermería o facultativo peticionario, para evitar la demora de los resultados.

OBJETIVOS/BUENAS PRÁCTICAS:

Comunicar las incidencias preanalíticas, enviando un preinforme solicitando la muestra necesaria, y por tanto, evitando que el resultado que llegue al médico, sea la incidencia producida, y no, el resultado de la prueba solicitada.

MATERIAL Y MÉTODOS:

- Peticiones manuscritas.
- Peticiones JSIGLO.
- Preinformes.

En el momento que se detecta la incidencia, introducirla en JSIGLO, validarla e imprimir un preinforme que enviaremos por la bala al destino solicitante.

RESULTADOS / PUESTA EN MARCHA:

Se espera una mejora en el tiempo de obtención de los resultados y se facilitará un soporte escrito que servirá de vehículo para enviar nuevas muestras.

CONCLUSIONES:

Se evaluará una vez puesto en marcha (ACTUALMENTE EN EVALUACIÓN)

Localidad: VALLADOLID

Correo electrónico del primer firmante: carmen@ioba.med.uva.es

RESUMEN:

OBJETIVO:

Comparar la toma de citología conjuntival con el dispositivo de recogida EYEPRIM™ (Opia Technologies, Francia) con la toma mediante citología conjuntival (CIC) convencional en cuanto a cantidad de ARN obtenido, molestia al paciente y coste económico.

Metodología:

El estudio se realizó en 20 voluntarios sanos, sin alteraciones de la superficie ocular. Una vez firmado el consentimiento informado y confirmado que cumplían los criterios de inclusión y exclusión, se procedió a la recogida de células epiteliales de la conjuntiva. Para la obtención de las muestras se utilizaron aleatoriamente los dos ojos de cada sujeto, en uno se realizó la toma mediante CIC convencional y en el otro ojo el dispositivo EYEPRIM™. Los voluntarios completaron un test subjetivo de valoración visual SANDE I para determinar el malestar producido por cada técnica (intensidad y frecuencia), tanto durante la obtención de la muestra como posterior a ella. Se extrajo el ARN de las muestras mediante el kit comercial RNeasy Micro (Qiagen) y se cuantificó mediante el kit comercial QUANT IT RNA (Invitrogen) en un espectrofotómetro Qubit. Se comparó la cantidad de ARN obtenido con cada técnica, se evaluó la concordancia entre ambas técnicas de citología y se estudiaron las correlaciones entre la cantidad de ARN obtenido y los resultados del test SANDE I. Adicionalmente se compararon los costes unitarios para la realización de cada técnica.

RESULTADOS:

No hubo diferencias entre la cantidad total de ARN obtenido mediante CIC convencional y el dispositivo EYEPRIM™ (0.265 ± 0.285 vs 0.317 ± 0.277 μ g, respectivamente ($p=0.45$). Normalizando la cantidad de ARN al área de las membranas, no existieron tampoco diferencias significativas (0.0040 ± 0.0043 μ g/mm² vs 0.00459 ± 0.0040 μ g/mm², respectivamente, $p=0.43$). Comparando los valores de los test subjetivos de molestia, no se encontraron diferencias en la frecuencia ni durante ($p=0.17$) ni tras ($p=0.68$) la adquisición de la muestra. Tampoco hubo diferencias en la intensidad de la molestia durante ($p=0.81$) ni tras ($p=0.36$) la adquisición de la muestra. El coste unitario para la obtención de la citología resultó ser más elevado para el EYEPRIM™.

CONCLUSIONES:

El dispositivo EYEPRIM™ resulta similar en cuanto a la obtención de ARN al obtenido por CIC convencional. En relación a la molestia en la toma los resultados mostraron que aún en ausencia de uso de anestesia el índice de molestia es similar a la causada por la CIC. Si bien el precio del EYEPRIM™ es superior en comparación con la CIC convencional, los resultados obtenidos en este estudio conjuntamente con las ventajas de presentarse en formato estéril, no necesitar uso de anestésico y su menor curva de aprendizaje para su uso óptimo señalan a este dispositivo como de gran utilidad para su uso en la práctica clínica.

Financiación: OPIA Technologies (Francia)

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 037

ESTUDIO COMPARATIVO DEL USO DEL EYEPRIM™ FRENTE A LA CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN CONJUNTIVAL CONVENCIONAL PARA LA OBTENCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO DE LAS CÉLULAS EPITELIALES DE LA CONJUNTIVA HUMANA.

Autor/a/s: CARMEN GARCÍA-VÁZQUEZ, SILVIA GUTIÉRREZ, ALBERTO LÓPEZ MIGUEL, AMALIA ENRÍQUEZ DE SALAMANCA

Centro de trabajo: INSTITUTO UNIVERSITARIO DE OFTALMOBIOLOGÍA APLICADA (IOBA)

MOVILIDAD ESPERMÁTICA Y PREDICCIÓN DEL PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN DE ESPERMATOZOIDES MÓVILES (R.E.M.).

Autor/a/s: Moreno Robles, Almudena; Miranda Roldán, Esther; Chica Moral, Irene; Roldán Peñuela, María Jesús; Esteban Suárez, Eduardo.

Centro de trabajo: Hospital General de Baza (Laboratorio de Reproducción Asistida).

Localidad: BAZA (GRANADA).

Correo electrónico del primer firmante: eduesteban26@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

La Organización Mundial de la Salud define la infertilidad como la incapacidad de la pareja para lograr una gestación que lleve al nacimiento de un hijo, después de un año de mantener relaciones sexuales sin métodos de planificación.

El tratamiento de la infertilidad se realiza mediante técnicas de reproducción asistida en grado creciente de complejidad, siendo la más asequible y menos costosa la inseminación artificial con semen de la pareja (I.A.C.), que consiste en la introducción no natural del esperma (previamente mejorado y capacitado) en la vagina de la mujer con la finalidad de conseguir una gestación.

Hemos realizado 25 ciclos de inseminación a 15 parejas en el período comprendido entre marzo 2010 febrero 2011, y es nuestro objetivo analizar la posibilidad de predecir el porcentaje de R.E.M. (recuperación de espermatozoides móviles) obtenido para inseminación en función de las características de movilidad de los espermatozoides en el semen previo. En las parejas escogidas, no se observaron anomalías morfológicas ni funcionales en la mujer.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El día de la inseminación se recoge el esperma del varón en nuestro Laboratorio y se realiza un seminograma previo, según metodología de la Organización Mundial de la Salud (1).

Previamente, la mujer ha sido sometida a estimulación ovárica con FSH, control ecográfico del diámetro del óvulo y ruptura del folículo con B-HCG 48 horas antes.

Se realiza R.E.M. (Recuperación de Espermatozoides Móviles progresivos) en el esperma con material convencional según la técnica de Sween-up (2), que consiste básicamente en lavado previo del semen, concentración por centrifugado e incubación durante 45 minutos en un volumen conocido de medio nutritivo (PureSperm Wash, de Nidacon). Se aspira el sobrenadante y se introduce en cánula estéril para inseminación de Gynetics Medical Products.

Todo el proceso se realiza en condiciones estériles (campana Telstar Mini-V/PCR) y las observaciones se realizan en microscopio de contraste de fases Olympus.

El rendimiento de la R.E.M. se calcula en porcentaje mediante la expresión:

$$\frac{\text{Volumen final} \times \text{Concentr. final} \times \% \text{ Espermatozoides móviles final}}{\text{Volumen inicial} \times \text{Concentr. inicial} \times \% \text{ Espermatozoides móviles inic.}}$$

RESULTADOS:

Se adjuntará Tabla en Panel (tamaño elevado).

CONCLUSIONES:

1) No es posible predecir el % R.E.M. que se obtendrá a partir de la movilidad espermática previa: pueden intervenir otros factores (vis-

cosidad).

2) Nuestro porcentaje promedio de R.E.M. se ajusta a la bibliografía.

3) En nuestras condiciones obtenemos un aumento de movilidad del 19% en promedio.

4) Parece existir un perfil de R.E.M. característico de cada individuo. Este hecho será objeto de posteriores estudios.

BIBLIOGRAFÍA:

1) WHO: Laboratory Manual of Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction.

Cambridge University Press, 1999.

2) De Jonge, C.: Biological Basis for Human Capacitation. Hum.Reprod.Update 2005; 11, 205-14.

ERAMUS MUNDUS JOINT MASTER DEGREE IN BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCES (MARBLE)

Autor/a/s: Fernando Mendes, Steve Meaney, Camilla Hesse, Armando Caseiro, Veronika Stefanik, Christine Schnabl, Marie Culliton

Centro de trabajo: Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra, ESTeSC Coimbra Health School, Departamento de Ciências Biomédicas Laboratoriais

Localidad: Coimbra, Portugal

Correo electrónico del primer firmante: fjmendes@estescoimbra.pt

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El laboratorio clínico (LC) tiene un papel vital en las decisiones médicas y la prestación de asistencia sanitaria. Sin embargo, es una parte casi invisible del sistema sanitario. La ciencia y la tecnología LC, han avanzado Significativamente en las últimas décadas. Esto ha puesto cada vez mayores exigencias al LC y ha impulsado el desarrollo de nuevas disciplinas especializadas en Laboratorios de Ciencias Biomédicas (LBS). El papel de los laboratorios biomédicos (LB) ha evolucionado también y se requieren cada vez, más conocimientos, habilidades y competencias especializadas para cumplir los requisitos para el diagnóstico del paciente y acertar con el tratamiento. Sin embargo, la capacidad de proporcionar ritmo a la educación avanzada en este campo, no se ha mantenido y hay un potencial significativo para la brecha de futuras habilidades en este sector. Hay una falta de programas de formación de postgrado adecuado para lograr los conocimientos, habilidades y competencias requeridas. Existe el riesgo de la falta de correspondencia entre los requisitos de la profesión y la disponibilidad de personal debidamente cualificado, que potencialmente pueden poner en peligro la prestación de la atención al paciente de alta calidad.

OBJETIVO:

Por lo tanto proponemos establecer así mismo, la alta calidad transnacional conjunta European Joint Master Degree in Biomedical Laboratory Sciences (EMJMD-MARBLE)

MATERIAL Y MÉTODOS:

O EMJMD-MARBLE incluirá cooperación entre los proveedores líderes educativos en Austria (Fachhochschule Campus Wien), Irlanda (Dublin Institute of Technology), Portugal (Instituto Politécnico de Coimbra - Coimbra Health School), y Suecia (University of Gothenburg), así como

la Asociación Europea de paraguas que representa esta profesionales en Europa, EPBS. Se entregará a los estudiantes una experiencia de aprendizaje que será único en Europa y en el Mundo.

Se pondrá de relieve el proceso de desarrollo y la estructura de este programa.

Los objetivos generales de la EMJMD-MARBLE son los siguientes:

- Apoyar la política de la progresión Que EPBS a mayores grados de nivel de maestría y doctorado es una parte integral de la educación y la formación de científicos biomédicos, reconociendo Que tal oportunidad no está disponible en todos los países de la UE.
- promover la calidad de la oferta de enseñanza superior con un valor añadido europeo y resulte atractiva tanto en la Unión Europea y fuera de sus fronteras, con miras a la creación y el apoyo a los centros de excelencia
- Contribuir a la mejora de la asistencia sanitaria de los servicios y la mejora de la seguridad del paciente .Desarrollar la capacitación de científicos biomédicos que tenga los conocimientos adecuados, habilidades y competencias para desarrollar e implementar nuevas tecnologías e investigaciones de promoción de la salud.
- Estimular y posibilitar a los graduados y académicos altamente cualificados de todo el mundo adquieran cualificaciones y / o experiencia informales en la Unión Europea y de adquirir experiencia internacional;
- Desarrollar una cooperación más estructurada entre la Unión Europea y las instituciones de los países socios y una mayor movilidad con destino a la Unión Europea por parte de los programas de estudios europeos;

CONCLUSIONES:

Mejorar la accesibilidad y mejorar el perfil y la visibilidad de la enseñanza superior en la Unión Europea. Que proporcionará la ruta para la educación de postgrado especialista nestes professionals.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 049

ALFABETIZACIÓN PARA LA SALUD Y DE LOS COMPORTAMIENTOS SOCIALES: ¿QUÉ RELACIÓN CON LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL?

Autor/a/s: Verónica Mendonça; Sandra Antunes; Isabel Andrade; Nádia Osório; Ana Valado; Armando Caseiro; António Gabriel; Anabela Correia Martins; Fernando Mendes Mendes

Centro de trabajo: Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra, ESTeSC Coimbra Health School, Departamento de Ciências Biomédicas Laboratoriais

Localidad: Coimbra

Correo electrónico del primer firmante: fjmendes@estescoimbra.pt

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

El Ingreso a la educación superior es un paso importante para el estudiante, durante la cual se desarrollan nuevas relaciones y toman decisiones sobre la salud. El comportamiento que se deriva de esto, se ve influenciado por el conocimiento y la Alfabetización para la Salud, que se define como, el grado en que las personas tienen la capacidad de obtener, procesar y entender información básica de salud y actuar de la manera apropiada. El comportamiento influye en la presencia de Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS), y este es un problema de salud pública, que ha ido en aumento, sobre todo en esta población.

Objetivos: El objetivo de este estudio fue comprender la relación entre el AS y conductas adoptadas por los estudiantes entre las escuelas y entre los géneros, así como estimar la prevalencia de ETS.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Para la realización de este estudio, las participantes completaron un cuestionario anónimo para evaluar los comportamientos sociales y los Niveles de la Alfabetización para la Salud (NAS) y una muestra de sangre para la detección de una ETS. La población estudiada pertenece al primer año, cincuenta, de Educación Superior Salud Humana (ESSH) y treinta y tres de Educación Superior No-Salud Humana (ESNSH).

RESULTADOS:

Hemos observado que las y los estudiantes de ESSH tienden a tener alta NAS, utilizan más preservativos consumen menos alcohol antes del encuentro sexual y tienen menos premisas acerca de las creencias sobre el VIH en relación con ESNSH. Hemos observado que cuanto mayor es el nivel de religiosidad, comienzan más tarde la actividad sexual. Nuestros resultados se encontró que la mujer utiliza menos preservativo, cuando tomar la pildora y una pareja sexual estable. Los varones muestran mayor intención de usar preservativos, a pesar que consumen más alcohol. La prevalencia del VHS-2 fue de 2,40 % de la población estudiada, y los casos positivos demuestran tener menos NAS, menos uso de preservativos y consumen más alcohol antes encuentro sexual.

CONCLUSIONES:

Podemos concluir que la más alta es la NAS corresponde a menores riesgos de comportamiento y de baja prevalencia de ETS.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 072

VALORACIÓN DE LA TASA DE GESTACIÓN POR INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CONYUGAL EN EL LABORATORIO DEL HOSPITAL JOAN XXIII DE TARRAGONA.

Autor/a/s: José Carlos Zamora Fernandez , Cristina Cañellas Nieto, Ignacio Velasco Santaella , Elisabet Cruz Cantos

Centro de trabajo: Hospital Universitaria Joan XXIII

Localidad: Tarragona

Correo electrónico del primer firmante: josecarlos.zamfer@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La infertilidad es la incapacidad para obtener descendencia después de al menos 12 meses de coitos no protegidos. La inseminación artificial es un proceso sencillo consistente en depositar semen fresco en el fondo de la vagina de una mujer fértil.

OBJETIVO:

Valorar esta práctica en el Laboratorio Camp de Tarragona i Terres de l'Ebre a partir de los resultados obtenidos desde el 2008 a abril de 2014 en parejas con dificultades reproductivas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La muestra es recogida por masturbación y se entrega en el laboratorio para ser procesada antes de un máximo de 1 hora. Durante este intervalo de tiempo la muestra estará en una estufa a 37°C. El método utilizado es el SWIM-UP , que consiste en seleccionar a los espermatozoides por su capacidad para nadar (se separan los espermatozoides con movilidad óptima de los inmóviles). Seguidamente

son introducidos en una solución salina isotónica estéril (medio de cultivo SPERM Assit) que favorece el mantenimiento y transferencia de espermatozoides por inseminación a nivel del cuello del útero.

RESULTADOS:

Hasta la fecha se han procesado 369 inseminaciones y para afinar más nuestro estudio, esperamos recaudar más datos en abril del presente año, ya que en dicho mes se hace el balance del año anterior (2014).

Agradecimientos al Dr. Rafael Sánchez Parrilla por su colaboración en la proporción de datos y formación de los integrantes del estudio.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 125

INTRODUCCIÓN: DE UNA MODIFICACIÓN EN LA TÉCNICA DE "SWEEN-UP" PARA RECUPERACIÓN DE ESPERMATOZOIDES MÓVILES.

Autor/a/s: Moreno Robles, Almudena; Miranda Roldán, Esther; Chica Moral, Irene; Roldán Peñuela, María Jesús; Esteban Suárez, Eduardo.

Centro de trabajo: Hospital General de Baza (Laboratorio de Reproducción Asistida).

Localidad: BAZA (GRANADA).

Correo electrónico del primer firmante: eduesteban26@yahoo.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

El procedimiento más sencillo, económico y asequible para el tratamiento de la infertilidad es la inseminación artificial con semen de la pareja (I. A. C.), que consiste básicamente en la obtención de un concentrado de espermatozoides móviles progresivos que se introducen de forma no natural en la vagina de la mujer, previamente preparada mediante estimulación ovárica hormonal y posterior liberación del (o los) óvulo más capacitado.

La más sencilla de las técnicas para la recuperación de espermatozoides móviles para inseminación es la denominada sween up .

Cuando se consulta la bibliografía existente se observan pequeñas variaciones en la ejecución de esta técnica, y nuestro objetivo consiste en dilucidar si una de ellas, la centrifugación antes de incubar, es realmente necesaria.

MATERIAL Y MÉTODOS:

La técnica de sween up se realiza con material convencional de laboratorio, y consiste básicamente en:

- 1) Lavado previo del semen a partes iguales con un medio nutritivo tamponado (PureSperm Wash , de Nidacon).
- 2) Concentración espermática por centrifugado a baja velocidad durante 8 minutos.
- 3) Decantado del sobrenadante, cuidando de no eliminar el botón centrifugado.
- 4) Adición cuidadosa al botón espermático resultante de 0,5 ml. del medio nutritivo anterior.
- 5) Nuevo centrifugado como anteriormente.
- 6) Incubación a 36° C. durante 45 minutos, colocando el tubo en posición inclinada (unos 45°) para aumentar la superficie de contacto. En estas condiciones, los espermatozoides móviles nadan desde el sedimento hacia el líquido.
- 7) Aspiración cuidadosa del sobrenadante mediante pipeta Pasteur, recuento y conteo de espermatozoides móviles progresivos y re-

cogida en cánula de inseminación.

Todo el proceso se realiza en condiciones estériles y con el material atemperado para evitar choques térmicos. Las observaciones se realizan con microscopio Olympus de contraste de fase.

Se procesan al azar 20 muestras de espermatozoides procedentes de la Consulta de Fertilidad y se realiza doble técnica de sween-up a cada una, con centrifugado previo antes de incubar a una de ellas.

RESULTADOS:

- 1) Sólo en el 30% de los casos, la centrifugación previa a la incubación produce una mayor R.E.M. (recuperación de espermatozoides móviles).
- 2) Sin centrifugación se obtiene en promedio un 23% más de espermatozoides móviles progresivos (E.M.P.).
- 3) Centrifugando, un 16% más de espermatozoides móviles progresivos.

CONCLUSIONES:

La centrifugación previa a la incubación puede provocar apelmazamiento del botón y entorpecer la movilidad espermática, por lo que no resulta recomendable su utilización.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1) De Jonge, C.: Biological Basis for Human Capacitation, Hum. Reprod. Update 2005; 11: 205 14.
- 2) Reina, B., Vicenta, P., Néstor, R., et al.: Capacidad fecundante espermática tras recuperación de espermatozoides mediante la técnica de Sween up. Arch. Esp. Urol., 58, 10: 1049 1054. 2005.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 162

EQUIPO DE PROTECCIÓN INDIVIDUAL EN EL LABORATORIO CLÍNICO PARA EL MANEJO DE PACIENTES CON VIRUS ÉBOLA

Autor/a/s: MARTA BRETÍN ZORNOZA, LAURA GONZÁLEZ TEJERO, - BLANCA RICO CASTILLO, MIRIAM GONZÁLEZ JIMÉNEZ, MELANIA PÉREZ PACHECO, EMILIA GÓMEZ RODRÍGUEZ, YOLANDA SEVILLA RAMÍREZ.

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: m.bretin@hotmail.es

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Debido a la alta tasa de letalidad y riesgo biológico al que se expone el personal técnico de laboratorio al procesar muestras de pacientes confirmados o en investigación de enfermedad por virus Ébola, es de suma importancia el protocolo de colocación, uso y retirada del equipo de protección individual para minimizar el riesgo de contagio.

OBJETIVOS:

Difundir el protocolo de uso del equipo de protección individual establecido para el laboratorio clínico de la Unidad de Aislamiento de Alto Nivel del Hospital Universitario La Paz - Cantoblanco - Carlos III del Servicio Madrileño de Salud.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El equipo de protección individual utilizado en la unidad de aislamiento de alto nivel del Hospital Universitario La Paz Carlos III Cantoblanco, se compone de: Perneras impermeables, guantes de nitrilo, buzo impermeable desechable que cubre hasta los pies, mascarilla específica

FFP3, capuza y gafas.

La colocación del equipo de protección individual debe seguir el siguiente orden:

Se procederá siempre al lavado de manos.

Colocar y sellar primer par de perneras. Colocar buzo hasta la cintura. Colocar y sellar segundo par de perneras. Ponerse y sellar el primer par de guantes de nitrilo. Colocar capuza. Colocar mascarilla FFP3. Colocar gafas estancas sobre buzo y mascarilla, finalizar la colocación del buzo cerrando hasta el cuello. Colocar y sellar el segundo par de guantes. Colocar y sellar el tercer par de guantes.

La retirada del equipo de protección individual debe seguir los siguientes pasos:

- En la habitación de aislamiento: Se procederá a la desinfección del pomo de la puerta con solución virucida. Retirar primeras perneras y tercer par de guantes
- En la esclusa: Desinfección de los pomos y del segundo par de guantes con solución virucida. Abrir la cremallera y comenzar a retirar la capucha del buzo, quitar el segundo par de guantes y retirar por completo el buzo. Lavado exhaustivo de manos con solución virucida. Se retira la capuza junto con la mascarilla y gafas. Lavado de manos con solución virucida. Retirar las últimas perneras y guantes. Salida de la esclusa, proceder al lavado de manos y ducha de siete minutos de arrastre.

Es requisito obligado por el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales, la presencia de dos profesionales, en cada intervención para asegurar la integridad del equipo de protección individual.

RESULTADOS:

Tras intervenir en tres casos confirmados y siete sospechas, no se ha registrado ninguna incidencia en la aplicación del protocolo de protección individual por parte del personal técnico de laboratorio. El método ha sido modificado en función de la experiencia en el uso y sugerencias que fueron evaluadas por el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales.

CONCLUSIONES:

El personal técnico de laboratorio debe utilizar las mismas medidas de protección individual que el resto del personal de otras áreas que trabaja en contacto directo con el paciente y seguir estrictamente los pasos del protocolo de colocación, uso y retirada del equipo de protección individual. Así como el uso de la solución virucida, bajo supervisión permanente del Servicio de Prevención de Riesgos Laborales, garantizándose la seguridad tanto a nivel individual como la propagación de la enfermedad.

Resumen Comunicación Científica - ORAL

Número: 171

EXPERIENCIA DEL SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS EN EL MANEJO DE PACIENTES CON ENFERMEDAD POR VIRUS ÉBOLA

Autor/a/s: LAURA GONZÁLEZ TEJERO, MARTA BRETÍN ZORNOZA, EMILIA GÓMEZ RODRÍGUEZ, MELANIA PÉREZ PACHECO, MIRIAM GONZÁLEZ JIMÉNEZ, BLANCA RICO CASTILLO

Centro de trabajo: HOSPITAL UNIVERSITARIO LA PAZ

Localidad: MADRID

Correo electrónico del primer firmante: laura.gontej@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

Ante la aparición de un brote de Virus Ébola, cepa Zaire, en África Occidental, la OMS (Organización Mundial de la Salud) activa la alerta internacional en Marzo de 2014. Es entonces cuando se asigna como hospital de referencia, en la Comunidad Autónoma de Madrid, al Complejo Hospitalario La Paz Carlos III Cantoblanco para posibles casos de Ébola.

En Abril de 2014, el Servicio de Análisis Clínicos se integra en el grupo coordinador con la misión de diseñar un laboratorio para atender a las necesidades clínicas de los pacientes con Enfermedad por Virus Ébola (EVE) en condiciones de aislamiento.

En Agosto de 2014 se decide la repatriación desde Liberia de dos pacientes, uno de ellos con infección confirmada por EVE.

En Septiembre de 2014 es repatriado un segundo paciente desde Sierra Leona, y durante el tratamiento de este caso, atendido en nuestra Unidad, se produce el contagio accidental de un trabajador sanitario, siendo éste el tercer y último caso confirmado hasta la fecha.

OBJETIVO:

Presentar nuestra experiencia en el manejo de muestras biológicas de pacientes con sospecha o confirmados por EVE.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Instalaciones: Se decidió que todas las determinaciones necesarias para el manejo clínico, pactado con el equipo facultativo, se realizaran dentro de la Unidad de Aislamiento, para lo cual se habilitó una habitación con presión negativa y esclusa para permitir la retirada del EPI (Equipo de Protección Individual).

Se eligieron analizadores de manejo sencillo tipo point-of-care-testing que requirieran mínima manipulación de la muestra, instalados en una cabina de bioseguridad clase II.

Personal técnico y facultativo: Inicialmente el grupo de voluntarios estaba formado por ocho técnicos, organizados de dos en dos con guardias localizadas en turnos y dos facultativos también con guardias localizadas.

EVALUACIÓN Y FORMACIÓN:

Los métodos fueron evaluados, probados y puestos a punto antes de instalarlos en el laboratorio, y se redactaron Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNTs) de cada uno de ellos.

El personal técnico recibió formación teórica y práctica tanto de los analizadores como en la colocación y retirada del EPI.

Actuación: A cada paciente se le realizaron el mínimo número de analíticas necesarias para su correcta atención, incluyendo las pruebas estrictamente útiles. En general se realizó una analítica al día.

La toma de muestras la realiza el personal de enfermería y las prepara con el método del triple envase para el transporte al laboratorio.

La manipulación de las muestras se realiza dentro de una cabina de bioseguridad de tipo II a fin de evitar una posible emisión de aerosoles y salpicaduras.

Los resultados son informados por teléfono directamente al facultativo.

Se establecen 45 minutos como tiempo máximo de trabajo dentro del laboratorio por persona.

RESULTADOS:

Se han atendido a tres pacientes confirmados por virus Ébola, y siete contactos aislados por sospecha.

En total se han realizado 29 analíticas en el laboratorio, proporcionando datos clínicos de determinaciones hematológicas, bioquímicas, gasometría y coagulación.

Se han desarrollado procedimientos internos y se han integrado nuevos equipos con el fin de mejorar y facilitar el trabajo al técnico, y

poder dar una información analítica más completa del paciente.

Gracias a la experiencia adquirida hemos ido modificando y mejorando la formación inicial recibida.

CONCLUSIONES:

En el Complejo Hospitalario La Paz Carlos III Cantoblanco hemos diseñado e implantado un laboratorio específico para el procesamiento de muestras de pacientes con enfermedades de alta infecciosidad en condiciones de aislamiento de alto nivel.

El trabajo del personal de laboratorio en estas condiciones exige preparación, formación y formas de trabajo muy específicas orientado a la seguridad del personal, de la población y a la curación del paciente.

Con esto hemos contribuido a la superación en esta enfermedad de uno de los pacientes.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 206

EXAMEN MICROSCÓPICO POR CITOCENTRIFUGACIÓN Y PROCEDIMIENTO AL ANÁLISIS DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR POR CITOMETRÍA.

Autor/a/s: CRIADO NAJAR INMACULADA, LUCEÑO CASTILLA YOLANDA, DORADO CABELLO DAVID, PALAU SANCHEZ INMACULADA.

Centro de trabajo: LABORATORI CLÍNICA ICS CAMP DE TARRAGONA

Localidad: TARRAGONA

Correo electrónico del primer firmante: inmacrina@gmail.com

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La técnica de Lavado Broncoalveolar (LBA) descrita inicialmente por Reynolds y Newball en 1974 fue concebida como procesamiento para analizar las células inmunes e inflamatorias del tracto respiratorio inferior tanto de pulmón normal como de varios de patología intersticial.

La buena correlación entre el tipo de células inmunes e inflamatorias obtenidas mediante (LBA) y las observadas en muestras de biopsia pulmonar abierta, la buena tolerancia del procedimiento y la relativa ausencia de complicaciones importantes son factores que han contribuido a la expansión de su utilización.

OBJETIVOS:

Analizar en el líquido del Lavado Broncoalveolar (obtenido por la técnica de la instalación del broncofibroscopio de un volumen determinado de suero fisiológico a nivel de un segmento o subsegmentos pulmonar, el líquido para el lavado se pone en alícuotas de 20 o 50 ml con una jeringa) el recuento porcentual de la población celular concentrada (macrófagos, linfocitos y polinucleares) por microscopía óptica tras tinción May Grünwald-Giemsa y el estudio de las poblaciones linfocitarias por citometría de flujo en el laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS:

1. El examen citológico y 2. Citometría del LBA en nuestro centro de trabajo se realiza en una de las áreas del departamento de Biología Hemática. El primero lo hacemos por citocentrífuga que no sólo nos permite separar las células en mono o polinucleadas, sino que nos permite hacer un recuento diferencial leucocitario y valorar su morfología.

Citocentrifugación:

El estudio de las células se tiene que realizar tan pronto como se recibe la muestra. Antes de dos horas para evitar que se produzca la mínima muerte celular posible. La citocentrifugación nos permite aug-

mentar la concentración de las células sin alterar su morfología para su posterior identificación con la tinción de May-Grünwald-Giemsa. (foto set centrifugación)

Utilizaremos un set de citocentrifugación el cual se compone de un cytocontenedor, un polipropileno tubo 2.2ml con tapa, un cubreobjetos y una tarjeta de filtro.

Pondremos 200 landas de la muestra de LBA en el cytocontenedor y seguidamente a la citocentrífuga Digicen 21 diseñada para la concentración de muestras biológicas sobre una superficie visible al microscopio, durante 10m a 400 rpm (programa 7 en nuestro servicio). Una vez centrifugado se deja que se seque para después tñirla.

Proceso de tinción:

-Sumergimos la muestra 2.5 m en May-Grünwald Lavamos 5 minutos en Giemsa Lavamos y por último dejamos secar y no lo cubrimos con DPX.

2. Procedimiento al análisis del Lavado Broncoalveolar (LBA) por citometría.

La citometría es una técnica objetiva y cuantitativa que nos puede ayudar a identificar pequeñas poblaciones patológicas a través de la identificación de fenotipos celulares aberrantes. El procedimiento es el siguiente:

La muestra la centrifugaremos a 1500 rpm durante 7m, una vez centrifugada quitaremos el sobrenadante y nos quedaremos con el volumen de muestra necesario para trabajar. Transferimos 100 landas de la suspensión celular a los tubos y a continuación añadiremos los monoclonales según protocolo establecido: A) CD4 FICT/CD8 PE/CD3 PerCP/CD45 APC y

B) CD19 FICT/CD16 PE/CD3 PerCP/CD45 APC. Se incuba 10 m a tª ambiente y en la oscuridad. Pasado este tiempo se hecha 2ml de PBS y se agita en el vortex. Si la muestra se encuentra contaminada por sangre será necesario lizarla entonces añadiremos 2 ml de solución lisante y se incuba durante 5 m a tª ambiente y en la oscuridad. Después se centrifuga la muestra 5 m a 2000 rpm, decantaremos y al final añadiremos 500 landas de PBS y se pasará por el citómetro.

RESULTADOS:

Para la celularidad por citocentrífuga, cuando el lavado se realiza en pulmones normales la célula presente más predominante es el macrófago, el cual está en un porcentaje de aproximadamente 90% o más de celularidad. Los linfocitos usualmente representan menos del 10% de la población celular, los granulocitos representan la población celular minoritaria con el 1-2%. Para el análisis de citometría de flujo cuantificaremos las poblaciones linfocitarias (Linfocitos T, CD4/CD8, NK y B).

CONCLUSIONES:

Los datos resultantes del análisis de la muestra del Lavado Broncoalveolar se procesan mediante un soporte informático y el médico responsable de la sección es quien genera un informe con todos los datos aportando información sobre la orientación diagnóstica del paciente.

Resumen Comunicación Científica - PANEL

Número: 212

ÓXIDO NÍTRICO Y ÁCIDO ÚRICO COMO MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Autor/a/s: Mendes C1, Leitão MJ2,3, Mendes F1, Osório N1, Caseiro A1, Gabriel A1, Valado A1

RESUMEN:

INTRODUCCIÓN:

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria, desmielinizante y autoinmune crónica de etiología desconocida. Es mayor en las mujeres, y los adultos jóvenes. La inflamación con formación de placas de desmielinización en el cerebro y la degeneración axonal como sea posible. La barrera de sangre del cerebro es responsable de mantener un ambiente controlado en la función cerebral restringida como una interfaz que limita y regula el intercambio de sustancias entre la sangre y el sistema nervioso central. Los niveles elevados de marcadores de estrés oxidativo (óxido nítrico y ácido úrico) han sido reportados en pacientes con EM.

OBJETIVOS:

Para evaluar el estrés oxidativo en pacientes con esclerosis múltiple y los controles mediante la medición de óxido nítrico (NO) y ácido úrico.

Material y métodos: El estudio se realizó en 20 pacientes con EM y 10 controles en los que hemos evaluado las concentraciones séricas de óxido nítrico y ácido úrico. La cuantificación de los niveles de NO se llevaron a cabo por reacción Griess seguido leyendo espectrofotométrica. La determinación de los niveles de ácido úrico se realizó mediante un método colorimétrico enzimático. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS Statistics 21.0.

RESULTADOS:

Los valores registrados tendían a ser mayor en los pacientes en comparación con los controles. El análisis cuantitativo de los niveles de óxido nítrico de los pacientes se obtuvieron valores de 35.44 ± 14.49 mmol/L. No control se obtuvieron valores de $32,15 \pm 8,07$ mmol/L. Los niveles de ácido úrico en pacientes fueron de $4,29 \pm 1,1$ mg/dL e no control de $3,99 \pm 1,1$ mg/dL. La relación de los niveles de NO y el número de años de MS tiende a ser negativo. La relación de la concentración de NO con la escala Expanded Disability Status Scale (EDSS) tiende a ser positivo.

CONCLUSIONES:

Los hallazgos muestran encontraron algo de estrés y sugieren la evaluación de NO como marcador de estrés en la esclerosis múltiple. Dado el pequeño número de muestras sugiere seguir trabajando para consolidar los resultados.

ÍNDICE DE AUTORES

Autor_Primerο	n.º página
ALONSO ALVAREZ, VICTORINA;	107
ALONSO DURAN, MARIA DEL MAR;	64
ALONSO HERRERO, LAURA;	15
ALONSO MONJE, ANA LUISA;	10
ALVAREZ ALVAREZ, MARIA ISABEL	42
AMADOR RODRIGUEZ, MARIA ELENA;	13, 48
ARES VIDAL, OLGA;	30
ARTILES HERNANDEZ, ANA MARIA;	118
BALMASEDA SERRANO, MARIA ANGELES;	84
BARBA MIRAMONTES, MARIA JOSE	124
BARRAGAN LOPEZ, VANESSA;	77
BARRANCO TORRES, RAFAELA;	120
BARREIRO CASTRO, BELEN;	72, 87
BENITEZ HERNANDEZ, LORENA;	53
BERNAL CACERES, JOSE ANTONIO	117
BERNAL DE LA ROSA, CARMEN;	94
BORONAT LLORET, FRANCISCA	39, 40
BOTANA COUSELO, CARMEN	81
BRETIN ZORNOZA, MARTA;	129
BUELA CRUCES, JOSEFA;	7
CABRERA BENITEZ, ANA MARIA;	108
CABRERA, CARMEN;	8
CALDERON DEL PINO, Mª BEGOÑA;	73
CARRERO BAZ, PILAR;	66
CASTILLO ALONSO, ALICIA JULIANA;	87
CIVICOS MARTIN, ANA MARIA;	96
COLLADO BARTOLOME, MARIA LUISA;	52
COLLANTE SANCHEZ, SUSANA	40, 50
COLMENERO MARTOS, ANA MARIA;	24
CONEJO SANCHEZ, MARIA DE LA LUZ;	79
COSTAN MEDINA, BEATRIZ;	90, 91
COUSELO NOYA, MARIA JESUS;	19
CRiado NAJAR, INMACULADA;	131
CRUZ LOPEZ, JOSEFA;	95

Autor_Primerο	n.º página
DELGADO BAUTISTA, FATIMA;	9
DIAQUE, PAULA;	67
DIAZ CAMPOS, JESUS MARIA;	62
DIAZ GONZALEZ, MARIA DEL CARMEN;	20
DIAZ VICO, RAMONA,	64
DIAZ ZAYAS, Mª DOLORES;	103
DOMINGUEZ LOPEZ, Mª TERESA;	103
EGEDA ORTIZ, PILAR;	35
ESTEBANEZ GALLO, ANGEL;	16
FAFIAN ARES, MARIA LUISA;	106
FERNANDEZ ANEIROS, MIGUEL;	86
FERNANDEZ COLLAR, EVA MARIA	11
FERNANDEZ MARTINEZ, MARIA MERCEDES;	61
FERNANDEZ, ANNA	68
FUENTES GONZALEZ, CRISTINA;	119
GALVEZ GONZALEZ, INMACULADA	75, 80
GARCIA FERNANDEZ, GRACIA;	48
GARCIA GONZALEZ, CRISTINA;	121
GARCIA PINO, SOFIA;	23
GARCIA SANCHEZ, MARIA DE LOS REYES	40
GARCIA TIRADOR, FRANCISCO;	37
GARCIA VELA, JOSE HERMINO;	98, 101
GARCIA-VAZQUEZ, CARMEN;	126
GARRIDO GUMIEL, MARIA;	82
GEA LOPEZ, MARIA FERNANDA;	63
GIL REYES, MARIA MERCEDES;	46
GOMEZ MARTIN, MANUELA	44
GOMEZ, CAROLINA;	69
GONZALEZ GARCIA, LAURA;	30
GONZALEZ RIEIRO, ISABEL;	25
GONZALEZ ROSA, MANUEL;	105
GONZALEZ TEJERO, LAURA;	88, 130
GONZALO ABRIL, VERONICA;	109
GUERRERO CRESPILO, ANGELA MARIA;	107, 108

Autor_Primer	n.º página
GUILLÉN ESTEBAN, CARMEN	82
GUILLÉN ESTEBAN, PILAR	43
HERNÁNDEZ CERVANTES, M ^a DOLORES;	99, 100, 101
HERRERO BERROCAL, MARIA;	63
HITA SANCHEZ, MARIA TRINIDAD;	29
ISANTA, RICARD;	67
IZQUIER HERNÁNDEZ, MARIA LUISA;	14
JANEIRO VARELA, PATRICIA	41, 51
JIMÉNEZ ARRISCADO, PILAR;	73
JUAN LIZANA, CRISTINA;	89
JULIAN VIÑALS, MARIA ASUNCION;	97
LAPUEBLA VIEL, CONSUELO;	78
LEZCANO LANZA, NURIA;	37
LOPEZ AGUADO, RUBEN	11
LOPEZ GALINDO, NURIA;	77
LOPEZ GUTIERREZ, MONTSERRAT;	102
LOPEZ SANCHEZ, MANUEL;	115
LOPEZ VILLANUEVA, MIRIAM	117
LUCEÑO CASTILLA, YOLANDA;	71
LUQUE-RAMIREZ, MANUEL;	28
MACHADO GONZALEZ, MARIA ANGELES;	85
MADRID ROSADO, SALVADOR;	22
MARTIN GARCIA, JULIA;	76
MARTIN GUTIERREZ, ALBERTO;	53
MARTIN ROMAN, SILVIA;	6
MARTINEZ, COVADONGA;	114
MARTINO SANZ, MARIO	96
MEDIAVILLA PEREZ, PAULINA;	34, 35
MEJIAS GARCIA, M ^a DEL ROSARIO;	62
MEJIAS GARCIA, M ^a ROSARIO;	58
MELÉNDEZ CADENAS, RICARDO JOSE;	5, 21, 24
MELERO, CARME;	70
MENDES, C.;	131
MENDES, FERNANDO;	127
MENDONÇA VERONICA;	128
MIGUEL GALLARDO, LARA;	13
MIÑAMBRES PRIETO, MARIA JOSE;	72

Autor_Primer	n.º página
MIRANDA ALFARO, GLORIA;	75
MOCHOLI MORENO, SUSANA;	112
MONGE CAMACHO, M ^a DEL PATROCINIO;	39
MONTESDEOCA QUINTANA, ELISA DEL CARMEN;	46
MORALES GALAN, PILAR;	104
MORAN CRIADO, MARIA JESUS;	59
MORENO CASARES, ANTONIA MARIA;	93, 94
MORENO RICAS, CONCEPCION;	33
MORENO ROBLES, ALMUDENA;	50, 127, 129
MOYA COMI, M ^a JOSE;	55, 89
MUIÑO ANDRADE, MARIA JOSE;	110, 111
NAVAJAS PAQUI;	31
NAVARRO PLAZA, ANA FLOR	79
NAVAS JIMENEZ, LUIS CARLOS;	12
NAYACH MONTE, IRACEMA;	8
NIETO SEGURA, CATALINA	42
ORTEGA DE FRANCISO, ANA M ^a ;	60
PACHECO FERNÁNDEZ, MARIA JESUS;	54
PACIOS PACIOS, MARIA ANGELES;	10
PANADERO TAPIA, NURIA;	91
PEIRO GARCIA, JULIO;	49
PEREZ BOO, ANTONIO;	88
PEREZ REYES, ROCIO	44
PEREZ, M ^a ANTONIA;	114
PINO LOPEZ, DANIEL;	126
POSADA POSADA, MIGUEL ANGEL;	5
POZO PEÑA, ANA MARIA	116
PRIETO SAINZ, BELEN;	19
PULIDO FERNÁNDEZ, RAQUEL;	45
PUMAREJO GOMEZ, ENRIQUETA;	16
QUINTANA QUINTANA, MARIA LUISA;	118
RAMIREZ NOVES, JOSE LUIS;	56
RAMOS PEÑA, MARIA CRUZ;	47
RAMOS SIERRA, LETICIA;	125
RICO RODRIGUEZ, TRINIDAD YOLANDA;	6
RIOS RAMOS, MARIA JOSE;	56
RIVAS MARCOS, MARIA BELEN;	9, 10

Autor_Primer	n.º página
RIVERA AGUILERA, VANESSA;	57
RIVERA GENTIL ROCIO;	123
RODRIGUEZ RODRIGUEZ, INMACULADA;	32
RODRIGUEZ RUBIO, CRISTINA;	109
ROLDAN MORENO, JOCABED;	69
ROMERO GARCIA, PAULA;	38
RUEDA DURAN, LUISA MARIA;	25, 26, 27
RUIZ GARCIA, LIDIA MARIA;	83
SALVADOR LORENZO, MARIA JOSE;	122
SAMPEDRO DE LA TORRE, INMACULADA CONCEPCION;	111
SANCHEZ MATEOS, CARMEN BEATRIZ;	60
SANCHO GARCIA, ALEJANDRA;	29
SANTIN PIEDRAFITA, ENGRACIA;	17
SASTRE GARROTE, ANA MARIA;	59
SEIJAS SANTAMARIÑA, MARIA;	21
SERRANO FERNANDEZ, MARIA INES;	34
SERRANO SERRANO, AGUSTINA;	105
SIERRA ATIENZA, CELESTINA;	113
SOISA LOPEZ, CAROLINA;	36
STRUZKA, EDUARDO ADRIAN;	122
TOLOSA ANTOLIN, AZUCENA;	20
TORRES DIAZ, JAVIER LAZARO;	115
URBON LOPEZ, CRISTINA;	74
VALERA ARCAS, MARIA DOLORES;	116
VARELA FERNANDEZ, JOSE A.;	84
VAZQUEZ BERTO, Mª CARMEN;	85
VEGA VARGAS, MARIA CONCEPCION;	104
VILLARRUBIA MARTIN-VILLAMUELAS, ELVIRA;	78
ZAMORA FERNANDEZ, JOSE CARLOS;	119, 128



**FUNDACIÓN - FRANCISCO
SORIA MELGUIZO**